

**Zur chemischen Struktur von Sesquiterpenen und
Sesquiterpen-Alkaloiden aus
Celastrus paniculatus WILLD.**

Elfriede Heckel

1974
—

Zur chemischen Struktur von Sesquiterpenen und

Sesquiterpen-Alkaloiden aus

Celastrus paniculatus WILLD.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Fakultät für Chemie und Pharmazie

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Elfriede Heckel

aus

München

April 1974



1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Wagner

2. Berichterstatter: Professor Dr. L. Hörhammer

Tag der mündlichen Prüfung: 27.5.1974

Herrn Professor Dr.H. Wagner danke ich für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit und für wertvolle Anregungen.

Besonders herzlich danken möchte ich Herrn Priv.-Doz. Dr.J. Sonnenbichler, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried b.München, für die Hilfe bei der Diskussion und Auswertung sämtlicher Spektren.

Mein Dank gilt auch Herrn Professor Dr.E. Stahl, Institut für Pharmakognosie und Analytische Phytochemie, Saarbrücken, für die Durchführung der Mikrodehydrierungen, Aufnahme der UV-Remissionsspektren und Hilfe bei ihrer Interpretation.

Herrn Professor Dr.J. Beal, School of Pharmacy der Ohio States University, Columbus/Ohio-USA, bin ich für den Aufenthalt in seinem Labor zu großem Dank verpflichtet.

Für die Aufnahme der zahlreichen NMR-Spektren danke ich Frau G.Schild, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried bei München.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
ALLGEMEINER TEIL	2
1.0 Vorkommen und botanische Beschreibung der Droge . .	2
1.1 Pharmakologie	4
1.2 Chemie der Pflanzeninhaltsstoffe	5
1.3 Alkaloide in Celastraceen	6
2.0 Nachweis, Isolierung und Strukturaufklärung von In-	
haltsstoffen aus <i>Celastrus paniculatus</i>	10
2.11 Vorproben auf Alkaloide	10
2.12 Untersuchung der Ölfraction	11
2.13 Isolierungsversuche der Terpenalkaloide	12
2.2 Isolierungsgang	15
2.21 Isolierungsgang und Dünnschichtchromatographie des	
Rohalkaloidgemisches (Fraktion A)	16
2.22 Isolierungsgang und Dünnschichtchromatographie des	
Terpengemisches (Fraktion B)	18
2.23 Präparative Auftrennung des Terpengemisches (Frak-	
tion B)	21
2.24 Präparative Auftrennung des Alkaloidgemisches	
(Fraktion A)	22
2.30 Strukturaufklärung von Substanz B ₁ (Malkangunin) .	25
2.301 Hydrolyse der Substanz B ₁	31
2.302 Nachweis der Zugehörigkeit des Sesquiterpenalkohols	
zur Endalingsgruppe	34
2.303 Struktur von Substanz B ₁	35
2.304 Zur Stereochemie von Malkangunin	39
2.31 Strukturaufklärung von Substanz A ₂ (Celapanin) . .	40
2.311 Nachweis der Sesquiterpenstruktur	46
2.312 Struktur von Substanz A ₂	47
2.313 Zur Stereochemie von Celapanin	49
2.32 Strukturaufklärung von Substanz A ₁ (Celapanigin) .	52
2.321 Struktur von Substanz A ₁	59
2.322 Zur Stereochemie von Celapanigin	61
2.33 Strukturaufklärung von Substanz A ₃ (Celapagin) . .	61

2.331	Struktur von Substanz A ₁	65
2.332	Zur Stereochemie von Celapagin	67
3.0	Zusammenfassung und Diskussion	69
E X P E R I M E N T E L L E R T E I L		73
4.0	Herkunft der Droge	73
5.0	Allgemeine Arbeitsmethoden	73
5.1	Fällungsreagentien für Alkaloide	73
5.2	Absteigende Papierchromatographie	73
5.21	Laufmittel zum Screening der Alkaloide	74
5.22	Sprühmittel	74
5.3	Dünnschichtchromatographie	74
5.31	Adsorbens	74
5.32	Laufmittel	74
5.33	Sprühreagentien	75
5.4	Präparative Dünnschichtchromatographie	77
5.5	Säulenchromatographie	77
5.6	Gaschromatographie	78
6.0	Physikalisch-chemische Untersuchungen	78
7.0	Orientierende Voruntersuchungen	80
7.1	Screening auf Alkaloide	80
7.2	Untersuchung des Öles	81
7.21	Alkalische Hydrolyse	81
7.22	Nachweis der Benzoe- und Essigsäure	81
7.23	Untersuchung des unverseifbaren Anteils	82
7.24	Darstellung der Fettsäuremethylester für die Gas- chromatographie	82
7.3	Untersuchungen zur Erstellung eines Isolierungsgan- ges für Alkaloide und Terpene	83
8.0	Isolierungen	84
8.1	Isolierung des Rohalkaloidgemisches (Fraktion A)	84
8.2	Isolierung des Terpengemisches (Fraktion B)	84
8.3	Säulenchromatographie des Terpengemisches	85
8.4	Säulenchromatographie des Rohalkaloidgemisches	86
8.5	Präparative Dünnschichtchromatographie	86

	Seite
9.0 Strukturaufklärungen	86
9.1 Malkangunin (B_1)	86
9.11 Methanolyse von Malkangunin	88
9.12 Isolierung von B_1 -Hy	88
9.13 Dehydrierung von Malkangunin	89
9.2 Celapanin (A_2)	90
9.21 Dehydrierung von Celapanin	91
9.3 Celapanigin (A_1)	91
9.4 Celapagin (A_3)	92
L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	93

E I N L E I T U N G

In der indischen Volksmedizin wird das Samenöl von Celastrus paniculatus WILLD. (Malkanguni, jyotisch-mati), einem in Ostasien heimischen Schlinggewächs der Celastraceen-Familie, als Sedativum, Nervinum und Tonicum verwendet. Versuche für diese Anwendung eine wissenschaftliche Erklärung zu finden und das Wirkprinzip zu isolieren bzw. strukturell aufzuklären sind bisher ohne Ergebnis geblieben.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es sein, die in der Droge schon in früheren Untersuchungen nachgewiesenen Terpenoide und Alkaloide der Droge zu isolieren und chemisch aufzuklären. Die Arbeiten waren zugleich als Grundlage für künftige pharmakologische und klinische Prüfungen gedacht.

A L L G E M E I N E R T E I L

1.0 Vorkommen und botanische Beschreibung von Celastrus paniculatus WILLD.

Celastrus paniculatus WILLD. (siehe Abb. 1, S.3), (syn. *Celastrus paniculata*; jyotish-mati (Sanskrit); Malkanguni (Hindi)) (1) gehört zur Familie der Celastraceae (Unterfamilie: Celastroideae, Gattung: Celastrae) und stellt ein sommergrünes Schlinggehölz dar, das in Ostindien, Ceylon, den Philippinen und den Sundainseln beheimatet ist.

Besonders bevorzugt sind die Gebirgsregionen Indiens, das Subhimalaya-Gebiet östlich von Jhelum bis zu einer Höhe von 1.200 m, die hügelige Gegend um Bombay und das Gebiet südlich von Gujarat, von Madhya Bharat und dem Madras (2).

Die Zweige sind einjährig, kahl, braun, rundlich und mit sehr vielen feinen, hellen Lentizellen besetzt. Die Laubblätter sind dünn, gelblich grün, kaum über 10 - 11 cm lang und 5 - 7 cm breit. Der endständige Blütenstand stellt eine 10 - 20 cm lange, hängende, vielblütig rispige Traube dar. Die Kronblätter sind nur etwa doppelt so lang wie die Kelchblätter, während die Fruchtsiele meist über 5 mm lang sind. Die Früchte stellen gelbe, nicht geflügelte, dehiszente Kapseln dar. Die braunen, ölreichen Samen sind von einem scharlachroten Arillus bedeckt (3,4).



Abb. 1

Celastrus paniculatus WILLD.

1.1 Pharmakologie

1.11 Verwendung in der Volksmedizin

Die Samen von *Celastrus paniculatus* bzw. das durch Kalt-pressung oder auch durch Destillation gewonnene Öl (Malkanguni-öl) werden in der indisch-ayurvedischen und -unanischen Medizin als Stimulans und als Diaphoreticum bei Rheuma, Gicht und Fieber verwendet (4,5).

Von einigen Autoren wird das Öl peroral verabreicht, zur Behandlung von juvenilem Schwachsinn, Gedächtnisstörungen und verminderter Gehirnfunktion empfohlen (2,6). Im ARYABHISHAK (7) wird die Droge als ein ausgezeichnetes Sedativum, Nervinum und Tonicum aufgeführt, während ihr KIRTIKAR und BASU (4) eine stark zentral stimulierende Wirkung zuschreiben.

1.12 Pharmakologische Untersuchungen

1963 wiesen SHETH und Mitarb. (8) in einer pharmakologischen Studie an Katzen und Hunden nach, daß das rohe, durch Pressen aus den Samen von *Celastrus paniculatus* gewonnene Malkanguni-Öl sedierende und tranquillisierende Eigenschaften besitzt. Da sehr hohe Dosen nötig waren (2 - 4 g/kg) zeigten sich Nebenwirkungen wie Tremor, Erbrechen und Speichelfluß. Durch einfache Lösungsmittelfraktionierung gelang ihnen die Isolierung eines wirksamen Anteils, der keine Nebenwirkungen mehr zeigte. Jedoch konnten sie die Inhaltsstoffe dieser Fraktion weder in reiner Form darstellen, noch chemisch näher charakterisieren. NEOGI und BALIGA (9) isolierten aus dem Malkanguni-Öl ein bitteres Harz, das bei einer Injektionsdosis von 2 mg an anästhesierten Hunden eine deutliche Blutdrucksenkung hervorrief. Am Froschherzen stellten sie bei geringen Dosen (0.2 mg/inj.) eine Verlangsamung des Herzschlages fest, bei höheren Dosen (1 mg/inj.) erfolgte Herzstillstand in der Diastole. Nach diesen Autoren bewirkt das rohe Malkanguni-Öl eine Vasokonstriktion der Blutgefäße und zeigt einen spasmolytischen Effekt auf den Uterus von Ratten. Gleichzeitig er-

wies es sich aber Ratten gegenüber als toxisch. Eine mikrobielle Aktivität konnte nicht gefunden werden. In einer Arbeit über die biologische Aktivität einer Reihe von indischen Pflanzen führen BHAKUNI und Mitarb. (10) auch *Celastrus paniculatus* auf. Es wurden die gesamte Pflanze, jedoch nicht die Wurzeln und Samen auf ihre Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Krankheitserregern untersucht. Man fand lediglich eine Aktivität gegenüber "Ranikhet disease virus".

1.2 Chemie der Pflanzeninhaltsstoffe

Nachdem bereits von WEHMER (11) und CHOPRA (5) die Gegenwart von Alkaloiden erwähnt worden war, gelang es BASU und PABRAI (12) aus dem Preßkuchen der Samen zwei Alkaloide (Celastrin und Paniculatin) zu isolieren. Nur das Celastrin konnte kristallisiert werden. Die Verbindung schmolz bei 260°C unter Zersetzung und hatte die Summenformel $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_3$. Im Samenöl konnten dagegen keine Alkaloide gefunden werden. Nach Verseifen des Öles fanden KUMARASWAMY und MANJUNATH (13) neben Linol-, Linolen-, Palmitin-, Stearin-Säure auch Lignocerin-, Benzoe- und Essigsäure. Aus dem unverseifbaren Anteil isolierten sie ein Phytosterol (Schmp. 136°C) und eine nicht weiter bestimmte, farblose, stickstofffreie Substanz. WARSI (14) beschreibt die Isolierung eines anderen Sterols aus derselben Fraktion und berichtet zusätzlich über das Vorkommen eines hellorangenen Farbstoffes im Öl. SHAH und Mitarb. (15) versuchten die Isolierung dieses Farbstoffes, konnten ihn aber wegen seiner Instabilität nicht rein darstellen. Dafür erhielten sie ein Sterol vom Schmp. 149°C . Dieses soll sich von einem dritten Sterol (Schmp. 142°C) unterscheiden, das BHARGAVA (16) außerdem noch im Samenöl nachgewiesen haben will.

Die erste ausführliche chemische Arbeit über das Samenöl stammt von GUNDE und HILDITCH (17) aus dem Jahre 1938. Diese Autoren fanden nach Verseifen des Öles neben Palmitin-, Stearin-, Öl-, Linol- und Linolensäure auch noch Ameisen- und Benzoe- und Essigsäure. Durch Verteilung des Öles zwischen

Petroläther und einem Methanol-Wasser-Gemisch (4:1) konnten sie den Nachweis erbringen, daß die flüchtigen Säuren nicht Bestandteil der Glyceride sind, sondern den Säureanteil eines gut fettlöslichen Polyesters bilden, dessen Grundalkohol möglicherweise eine Summenformel von $C_{15}H_{26}O_5$ besitzt. Ist dieser Anteil aus dem Öl entfernt, so weist dieses eine für Pflanzenöle übliche Zusammensetzung auf. Erst kürzlich konnten DEN HERTOOG, NANAVALI und Mitarb. (18) nach Verseifung des Öles einen der darin enthaltenen Polyalkohole isolieren und seine Struktur ermitteln. Sie nannten das Sesquiterpentrol Malkanguniol (Struktur siehe Abb. 15, S. 37).

1.3 Alkaloide in Celastraceen

(Zusammenfassung siehe Abb. 2, S. 9)

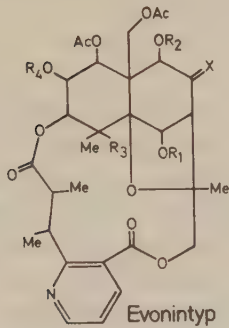
Nach HEGNAUER (19) scheinen basische Polyester in der Celastraceenfamilie weit verbreitet vorzukommen. Die ersten Alkaloide wurden von SANTAVY und REICHSTEIN (20) in *Euonymus europaea* L. bei der Isolierung der darin ebenfalls enthaltenen Cardenolide (20) entdeckt. DOEBEL und REICHSTEIN (21) stellten für die chromatographisch getrennten Alkaloide provisorische Summenformeln auf und benannten sie mit "Base A, B, C". Später isolierten PAILLER und LIBISELLER (22) aus derselben Pflanze ein Alkaloid, das mit Base C identisch war. Sie nannten es Evonin und ermittelten die Summenformel. Nach alkalischer Verseifung des Evonins isolierten die Autoren die "Evoninsäure" und bestimmten deren Konstitution und absolute Konfiguration als (2S : 3S)-2-Methyl-3-methyl(β -carboxy- α -pyridyl)propionsäure (23). 1971 gelang es WADA und Mitarb. (24) aus *Euonymus sieboldiana* BLUME das gleiche Evonin zu isolieren und seine vollständige Struktur (25) einschließlich der Stereochemie (26) aufzustellen. Gleichzeitig berichteten sie über die Isolierung und Struktur von drei weiteren ähnlichen Alkaloiden, dem Neo-Evonin, Euonymin und Neo-Euonymin (27). Alle diese Alkaloide sind mit Evonin strukturell eng verwandt. PAILLER und Mitarb. (28) kamen in Fortsetzung der früheren Untersuchungen auf anderem Weg zur Konstitution des Evonins

und konnten zusätzlich noch die Struktur eines weiteren Alkaloids, des Evonolins, aufklären. KLASEK und Mitarb. (29) bestimmten mit Hilfe der Massenspektroskopie die Summenformel der von DOEBEL u. REICHSTEIN (20) isolierten Basen A und B. Sie benannten sie Evozin und Evorin und bezeichneten diese als Tri- und Tetra-O-acetyl-Derivate des Evonins. Einem weiteren Alkaloid gaben sie den Namen Isoevorin. BUDZIKIEWITZ und Mitarb. (30) isolierten aus *Euonymus europaea* ein 4-Desoxyevonin, das sich aber mit Evonolin identisch erweis. CROMBIE und Mitarb. (31) berichten über zwei weitere Evoninabkömmlinge, ein 2,5-Bis-deacetyl und ein 2-Deacetylevonin. Aus der Mutterlauge der Evoninisolierung erhielten DUBRAVKOVA und Mitarb. (32) ein amorphes Isoevonin, das bei Methanolyse denselben Grundalkohol wie Evonin, aber einen anderen Säurerest, nämlich Methyl-2-(3-methoxy-carbonyl)-butyl-nicotinsäure lieferte. PAILER und LIBISELLER (28) hoben die Ähnlichkeit im Bau von Evonin mit den Alkaloiden von *Trypterygium wilfordii* HOOK hervor, die von ACREE und HALLER (33), besonders aber von BEROZA (34) untersucht worden waren. BEROZA konnte fünf Esteralkaloide Wilfordin, Wilforin (34), Wilforgin, Wilfortrin (35) und Wilforzin (36) isolieren und ihre Teilstrukturen (37) bestimmen. Sie leiten sich alle von einem Grundalkohol der Summenformel $C_{15}H_{16}(OH)_{10}$ ab und sind mit Wilfordin- bzw. Hydroxywilfordinsäure verestert. Die Wilfordinsäure stellt als 3-carboxy- α -methyl-2-pyridyl-buttersäure ein Isomeres der Evoninsäure dar (38). Die Wilfordinabkömmlinge sind ebenso wie Evonin mit 5 Mol Essigsäure, jedoch zusätzlich mit 1 Mol Benzoessäure bzw. 1 Mol 3-Furancarbonsäure verestert. Kürzlich gelang es SHIZURI und Mitarb. (39) aus *Euonymus alatus forma striatus* (THUNB.) Makino das Wilfordin und als weiteres Alkaloid des gleichen Typs das Alatamin zu isolieren und dessen Struktur vollständig aufzuklären. Ebenfalls zu den Wilfordinabkömmlingen zählen die beiden, von den gleichen Autoren (40) aufgeklärten Nebenalkaloide Evonimin und Euomin aus *Euonymus sieboldiana* BLUME. KUPCHAN und Mitarb. (41) berichten über zwei neue Alkaloide aus *Maytenus ovatus* LOES.

Die als Maytin und Maytolin bezeichneten Verbindungen wurden durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt. Sie besitzen den gleichen sesquiterpenoiden Aufbau des Grundalkohols wie die anfangs erwähnten Esteralkaloide, enthalten aber neben vier Acetylresten nur einen Nicotinsäurerest. Die Aufklärung dieser neuen Alkaloidfamilie dürfte den japanischen Autoren die Ableitung der Struktur für das Evonin erleichtert haben. Ähnlich gebaut sein könnte auch das von CAIS und Mitarb. (42) isolierte und teilweise charakterisierte Cathidin-D aus *Catha edulis* FORSK. Es leitet sich von einer tri-cyclischen Polyhydroxyverbindung ab und liefert bei alkalischer Verseifung 2 Mol Essigsäure, 1 Mol Benzoe- und 1 Mol Nicotinsäure. Neben diesen Sesquiterpenalkaloiden wurden in *Euonymus europaea* 3-p-aryloxy-macrocyclische Peptidalkaloide (Frangulanin, Franganin und Frangufolin), 1-Benzyl-tetrahydroisochinolin-Alkaloide (Armepavin) (43) und in *Maytenus ovatus* das Ansamacrolid Maytansin (44) gefunden.

Nach den bisherigen Untersuchungen kann man die basischen Polyester der Celastraceen in folgende drei Typen zusammenfassen: a) Evonintyp; b) Wilfordintyp und c) Maytintyp. Ihre alkoholischen Sesquiterpengrundstrukturen können vom Eudesman- bzw. β -Dihydrogarofurangrundgerüst abgeleitet werden, wie Abb. 2, S. 9) zeigt.

Bisher bekannte Terpen-Alkaloide der Celastraceen-Familie



Evonin (Alk.C):

$R_1=R_2=R_4=Ac, R_3=OH, X=O$

Neo-Evonin:

$R_2=R_4=Ac, R_1=H, R_3=OH, X=O$

Euonymin:

$R_1=R_2=R_4=Ac, R_3=OH, X=\begin{smallmatrix} OAc \\ | \\ H \end{smallmatrix}$

Neo-Euonymin:

$R_2=R_4=Ac, R_1=H, R_3=OH, X=\begin{smallmatrix} OAc \\ | \\ H \end{smallmatrix}$

Evonolin (4-Desoxyevonin):

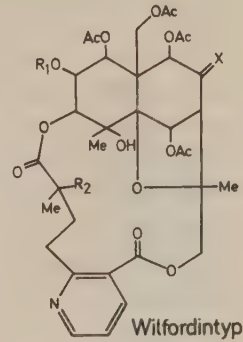
$R_1=R_2=R_4=Ac, R_3=H, X=O$

2,5-Bisdeacetylevonin:

$R_2=Ac, R_1=R_4=H, R_3=OH, X=O$

2-Deacetylevonin:

$R_1=R_2=Ac, R_3=OH, R_4=H, X=O$



Wilfordin:

$R_1=COPh, R_2=OH, X=\begin{smallmatrix} OAc \\ | \\ H \end{smallmatrix}$

Alatamin:

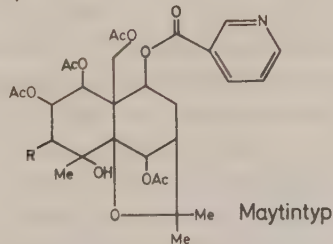
$R_1=COPh, R_2=OH, X=O$

Evonimin:

$R_1=Ac, R_2=H, X=O$

Euonin:

$R_1Ac, R_2=H, X=\begin{smallmatrix} OAc \\ | \\ H \end{smallmatrix}$



Maytin:

$R=H$

Maytolin:

$R=OH$

2.0 Nachweis, Isolierung und Strukturaufklärung von Inhaltsstoffen aus Celastrus paniculatus

2.11 Vorproben auf Alkaloide

Das gehäufte Auftreten von Terpenalkaloiden in der Celastraceen-Familie ließ vermuten, daß gleiche oder ähnliche Verbindungen auch in Celastrus paniculatus enthalten sein könnten. Der Nachweis von Alkaloiden wird im allgemeinen mit Fällungsreagentien wie Dragendorff (59), Valsers (57) oder Mayers Reagens (58) durchgeführt. Dazu benötigt man salzsaure Auszüge, die bei Anwesenheit von Alkaloiden Niederschläge ergeben. Zum dünnschichtchromatographischen Nachweis eignen sich das modifizierte Dragendorff- (59) oder Jodplatinat-Reagens (60).

Getrocknete, gemahlene Samen wurden mit Petroläther extrahiert und der vom Lösungsmittel befreite Extrakt dünnschicht- und papierchromatographisch untersucht. Nach dem Besprühen mit Dragendorff- bzw. Jodplatinat-Reagens waren in beiden Fällen nur äußerst schwache Färbungen zu erkennen. Zur Anreicherung der Alkaloide wurde daher der Petrolätherextrakt mit 1n HCl ausgeschüttelt und eine Probe der sauren Lösung mit Valsers- bzw. Mayers-Reagens versetzt. Nach dem schwachen Ausfall der Reaktion war mit der Anwesenheit von nur geringen Alkaloidmengen zu rechnen. Die saure Lösung wurde, nachdem sie mit Chloroform (= saurer Chloroformextrakt) ausgezogen worden war, stufenweise alkalisiert und bei verschiedenen pH-Werten mit Chloroform ausgeschüttelt. Sämtliche Chloroformextrakte wurden dünnschicht- und papierchromatographisch untersucht. Dabei zeigte sich, daß nur der "saure Chloroformextrakt" und der bei pH 8 erhaltene Auszug positiv reagierten. Nach der Petrolätherextraktion wurden die Samen getrocknet und mit Äther, sowie anschließend mit Methanol, extrahiert. Beide Extrakte wurden nach den oben beschriebenen Methoden getestet. Die Reaktionen verliefen nunmehr negativ. Nachdem BASU (12) bei seinen Isolierungsversuchen die Alkaloide nur im Samenpreßrückstand, jedoch nicht im Öl gefunden

hatte, untersuchten wir auch diesen. Nach Abpressen des Öles in der Kälte und Extraktion des Preßrückstandes mit Methanol behandelten wir den vom Lösungsmittel befreiten Auszug wie zuvor beschrieben. Da im Gegensatz zu BASU (12) im Preßkuchen keine Alkaloide zu finden waren, testeten wir das Samenöl. Die sauren Lösungen zeigten mit den Fällungsreagentien deutliche Niederschläge. Nach dünnsschicht- bzw. papierchromatographischer Auftrennung lieferten (wie auch bei der Untersuchung der Samen) der "saure Chloroform-Extrakt" und der aus schwach basischen Milieu hergestellte Chloroformauszug deutlich positive Reaktionen.

2.12 Untersuchung der Ölfraction

Zur genaueren Untersuchung der bereits von GUNDE und HILDITCH (17) beschriebenen Triglycerid-Fettsäuren, verseiften wir das Öl mit methanolischer Kalilauge und analysierten das aus stark saurem Milieu durch Ätherextraktion erhaltene Fettsäuregemisch, indem wir dessen Fettsäuremethylester gaschromatographisch an einer EGSSX-Säule trennten. Neben den in Tab. 1 aufgeführten Säuren waren noch zwei nicht näher bestimmbare Säuren in einer Konzentration von 6.2 bzw. 9% nachweisbar. Ihre relativen Retentionszeiten bezogen auf den Palmitinsäuremethylester (t_r = ca. 5 min) betrugen 0.75 bzw. 1.29.

T a b e l l e 1

%-Gehalt der Triglycerid-Fettsäuren des Samenöls
(lt. Gaschromatographie bezogen auf die Gesamtpeakfläche)

Stearinsäure	2.4
Ölsäure	63.2
Linol-, γ -Linolensäure	3.9, 2.7
Laurinsäure	4.2
Myristinsäure	0.8
Palmitinsäure	7.4
Arachinsäure in Spuren	

Der Hauptanteil des nach Hydrolyse erhaltenen Säuregemisches wurde einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Im wasserdampf-flüchtigen Anteil konnte dünn-schichtchromatographisch im System Benzol-Dioxan-Eisessig (90:25:4) Benzoessäure ($R_f = 0.63$) und im System Äthanol-Ammoniak-H₂O (80:4:16) Essigsäure ($R_f = 0.33$) nachgewiesen werden. Die Detektion erfolgte bei beiden Substanzen mit Bromkresolgrün. Nach Umkristallisieren der wasserdampf-flüchtigen Säurefraktion aus heißem Wasser bildeten sich weiße Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 122°C. Der Mischschmelzpunkt mit authentischer Benzoessäure zeigte keine Depression.

Der nach der Hydrolyse des Samenöls durch Extraktion mit Äther erhaltene unverseifbare Anteil wurde dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgel 60 im System Chloroform-Äthylacetat (8:2) aufgetrennt. Zwei der zahlreichen Flecken konnten auf Grund ihrer verschiedenen Anfärbung nach Besprühen mit a) Chlorsulfonsäure; b) Antimon-III-chlorid; c) Essigsäureanhydrid-H₂SO₄ und Vergleich mit Testsubstanzen als die Triterpene α,β -Amyrin ($R_f = 0.76$) und β -Sitosterol ($R_f = 0.62$) identifiziert werden.

2.13 Isolierungsversuche der Terpenalkaloide

2.131 Verteilung des Preßöls zwischen Petroläther/Methanol-H₂O (4:1)

In einer Arbeit über die Triglycerid- bzw. Fettsäurebestandteile des Celastrusöles erwähnen GUNDE und HILDITCH (17), daß ihnen die Abtrennung von terpenoiden Bestandteilen aus dem Öl durch Verteilung zwischen Petroläther und 80%igem Methanol gelungen sei. Nach zwanzigmaler Verteilung hätte die Petrolätherphase eine "normale" Fettsäurezusammensetzung aufgewiesen.

Da anzunehmen war, daß durch diese Verteilung auch Alkaloide aus dem Öl entfernt werden, wurde das Preßöl in der dreifachen Menge Petroläther gelöst, so daß die Lösung nur noch eine geringe Viskosität hatte und gegen verhältnismäßig kleine Anteile eines Methanol-H₂O-Gemisches (4:1) verteilt.

Nach mehrfacher Verteilung ergab die Chromatographie von Petrolätherphase und methanolisch-wässrigem Extrakt, ganz eindeutig, daß die Alkaloide quantitativ in die Unterphase übergegangen waren. Ein Vorteil dieser Methode war das Ausbleiben von Emulsionen nach den einzelnen Verteilungsprozessen. Zur weiteren Reinigung wurde der vom Lösungsmittel befreite Extrakt in Äther gelöst und hieraus das Alkaloidgemisch durch Einrühren in 5% HCl abgetrennt. Nach Neutralisation mit ges. Na_2CO_3 -Lösung und Aufnahme der Basen in Chloroform wurden diese im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1) chromatographiert. Beim Besprühen mit Dragendorff zeigten sich im R_F -Bereich von 0 - 0.6 acht bis zehn deutlich orange-, mit Jodplatinat schmutzig-gelb gefärbte Flecken, die von den Fett- und Stearin-Substanzen weitgehend abgetrennt waren. Die Anfärbbarkeit mit den wässrigen Detektionsmitteln war nun um ein Vielfaches besser. Da das angegebene Verteilungsverfahren für eine Großextraktion äußerst langwierig und umständlich war, suchten wir nach einer selektiveren Abtrennmethode.

2.132 Verteilung der Skellysolv B (= n-Hexan)-Extrakte gegen n-Salzsäure

Die gemahlene Samen wurde im Perkulator erschöpfend mit Skellysolv B extrahiert, der Auszug auf etwa die Hälfte des Volumens eingeeengt und mehrmals mit 1N Salzsäure ausgeschüttelt. Jede der sauren Ausschüttelungen wurde mit Valser-Reagens getestet. Nach zwanzigmaligem Ausschütteln war der Reaktionsausfall - vermutlich wegen der äußerst geringen Basizität der Alkaloide - immer noch schwach positiv. Der Skellysolv-Extrakt trennte sich im Gegensatz zu Petrolätherauszügen bereits nach wenigen Minuten vollständig von der wässrigen Phase und auch bei heftigem Schütteln bildeten sich keine Emulsionen.

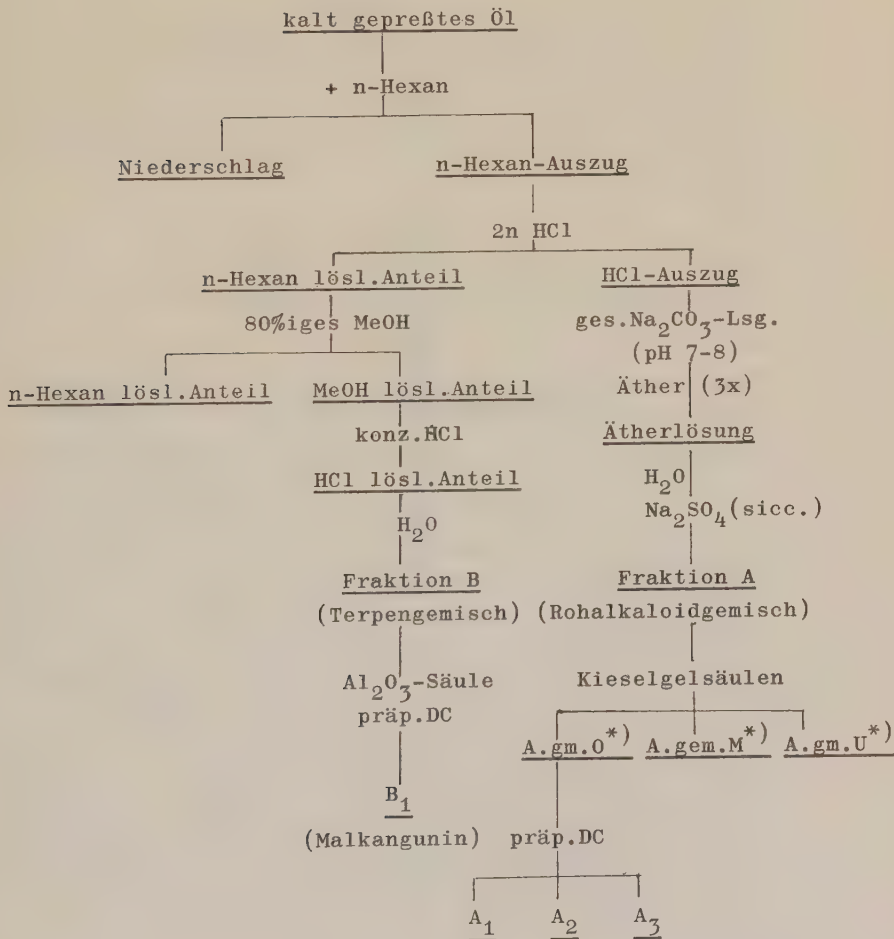
Die gesammelten HCl-Auszüge wurden mit Natriumkarbonatlösung neutralisiert, mit Äther ausgeschüttelt und chromatographiert. Die "Alkaloidfraktion" gab dasselbe Chromatogramm wie bei der vorher beschriebenen Methode (2.131).

2.133 Verteilung des Preßöls zwischen n-Hexan und 2n-Salzsäure

Um eine größere Drogenmenge aufarbeiten zu können, erschien es zweckmäßiger, von dem abgepreßten Öl auszugehen. Das viskose, dunkelrote Öl wurde mit n-Hexan im Verhältnis 1:3 verdünnt und die Konzentration der Salzsäure auf 2n erhöht, um die schwachen Basen schneller und quantitativer in ihre Salze überzuführen. Auch bei dieser Säurekonzentration ergab noch die zwanzigste Ausschüttelung mit Valsers-Reagens eine Trübung. Sie war jedoch bedeutend geringer als bei der Verwendung von 1n Salzsäure. Versuche, die Basen als Citrate oder Sulfate leichter in organische Lösungsmittel überzuführen, brachten keine besseren Ergebnisse. Die Alkalisierung erfolgte bei diesem Verfahren ebenfalls nur bis zu einem pH von 8. Lösungen, in denen dieser pH-Wert überschritten wurde, färbten sich sofort dunkel, woraus man auf eine eventuelle Veränderung der Alkaloide schließen kann. Dies wurde durch die Chromatographie bestätigt: Wenn die wässrige, bis pH 10 alkalisierte Lösung mit Äther extrahiert und dann chromatographiert wurde, waren auf dem Kieselgelchromatogramm keine "Dragendorff-positiven" Flecken mehr nachweisbar.

Abb. 3

Isolierungsgang



(Celapanigin, Celapanin, Celapagin)

- *) A.g.m.O = Alkaloidgemisch im oberen R_f -Bereich (s. Abb. 4, S. 17)
- *) A.g.m.M = Alkaloidgemisch im mittleren R_f -Bereich (s. Abb. 4, S. 17)
- *) A.g.m.U = Alkaloidgemisch im unteren R_f -Bereich (s. Abb. 4, S. 17)

Die gesuchten Alkaloide zeigen somit schwach basischen Charakter, sie sind relativ säurestabil, jedoch empfindlich gegen Laugen.

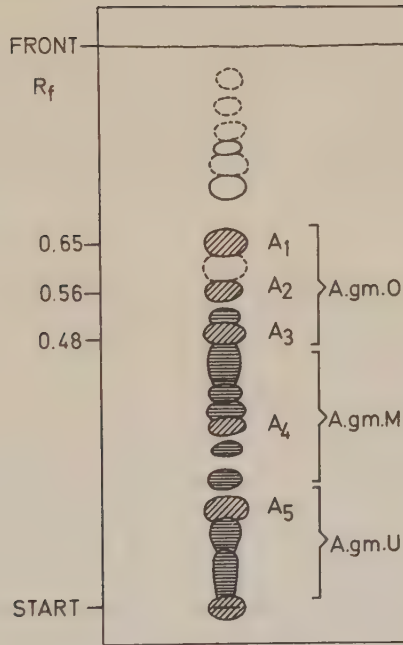
Wie zahlreiche Vorversuche ergeben hatten, eignete sich das Verteilungsverfahren, wie unter 2.131 beschrieben, nach Abtrennung der Alkaloide am besten zur Gewinnung der Terpenfraktion, während das Verfahren unter 2.133 die größten Vorteile zur Abtrennung und Isolierung der Alkaloide zu haben schien.

2.2 Isolierungsgang und Dünnschichtchromatographie

2.21 des Rohalkaloidgemisches (= Fraktion A) (s. Abb. 4, S. 17)

Das nach dem Isolierungsschema der Abb. 3, S. 15) erhaltene Rohalkaloidgemisch ergab nach Kieselgel-Dünnschichtchromatographie im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1) unter UV-Betrachtung bzw. Besprühen mit Dragendorff-Reagens nachstehendes Chromatogrammbild. Die vorläufige Benennung der Substanzen erfolgte in fortlaufender Nummerierung beginnend mit A_1 als dem Alkaloid mit dem höchsten R_f -Wert. Sämtliche Dragendorff-positiven Substanzen wiesen auf Kieselgel GF₂₅₄ im UV-Licht bei 254 nm eine Fluoreszenzminderung auf. Mit Kaliumjodplatinat besprüht, zeigten die sich mit Dragendorff anfärbbaren Substanzen eine schmutziggelbe bis graubraune Farbe.

Zur Detektion der Alkaloide erwies sich Dragendorffs Reagens, modifiziert nach MUNIER und MACHEBOEFF (59) am geeignetsten. Das Hydroxylamin-Eisen-III-chlorid-Reagens für Carbonsäureester (61) und das NBD-Chlorid-Reagens (62) (s. Experim. Teil 5.33) für Nicotinsäure waren zu wenig empfindlich. Vanillin-Schwefelsäure ergab mit sämtlichen Flecken eine violette bis blaue Färbung.



Laufmittel : Benzol-Äthylacetat (1:1)

Sprühreagenz : essigs. Dragendorff

- UV₂₅₄ (Fluoreszenzlöschung)
- UV₃₆₀ (hellblaue Fluoreszenz)
- ▨ Dragendorff stark positiv
- ▤ Dragendorff schwach positiv

Abb. 4

Dünnschichtchromatogramm der Rohalkaloide (Fraktion A)

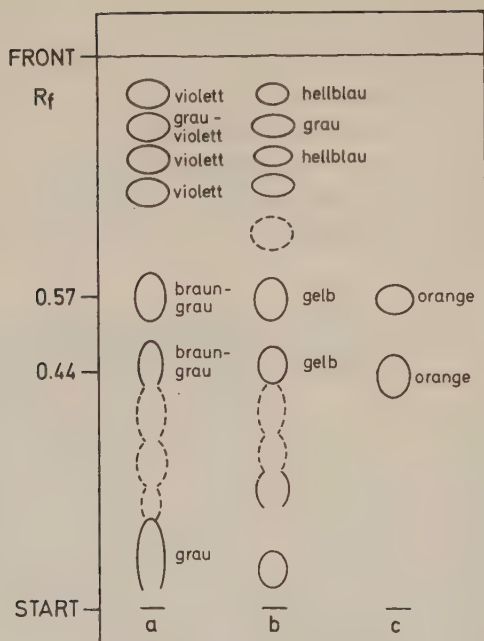
Kieselgel 60 GF₂₅₄

Nach dem Chromatogrammbild befinden sich im Rohalkaloidauszug mindestens 13 Alkaloide, von denen nach Anfärbbarkeit mit Dragendorff und Größe ihrer Flecken die Verbindungen A_1 , A_2 , A_3 , A_4 und A_5 als die Hauptalkaloide anzusehen sind. Zusätzlich finden sich noch eine Reihe von im UV₃₆₀ hellblau fluoreszierender Flecken. Auffallend war, daß sich im R_f -Bereich zwischen A_1 und der Laufmittelfront weitere Flecken mit Dragendorff anfärbten, die jedoch beim Nachsprühen mit 2% Essigsäure oder nach 10 Min. Trocknen an der Luft wieder verschwanden.

2.22 Isolierungsgang und Dünnschichtchromatographie für das Terpengemisch (Fraktion B) (s. Abb. 5, S. 20)

Nachdem die HCl-löslichen Anteile aus dem mit n-Hexan verdünnten Preßöl abgetrennt waren, wurde dieses gegen ein Gemisch von Methanol- H_2O (4:1) verteilt. Der nach Abdampfen des Lösungsmittels in konz. Salzsäure lösliche Anteil wurde durch Zugabe von H_2O ausgefällt (siehe Abb. 3, S. 15, Isolierungsschema) und das so gewonnene Terpengemisch dünn-schichtchromatographisch in den Laufmitteln Benzol-Äthylacetat (1:1), Chloroform-Methanol (100:2) und Chloroform-Methanol (10:2) untersucht. Benzol-Äthylacetat (1:1) erwies sich am günstigsten. Das Chromatogrammbild ist ab Abb. 5, S. 20, dargestellt. Nach dem Besprühen mit Vanillin-Schwefelsäure zeigten sich eine Reihe von für Terpene charakteristische blau-violette Flecken. Bei Verwendung von Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure (63) als Reagens fielen im mittleren R_f -Bereich zwei Substanzen ($R_f = 0.57$ und 0.44) auf, die im UV-Licht (360 nm) eine leuchtend gelbe Farbe aufwiesen. Dieselben Flecken gaben nach Detektion mit Dragendorff-Reagens eine deutlich orangerote Färbung, die aber nach 10 Min. oder beim Nachbesprühen mit 2% Essigsäure wieder verschwand. Dieses Verhalten, das bereits bei der Chromatographie der Alkaloidfraktion an einigen lipophilen Verbindungen aufgefallen war, sprach gegen das Vorliegen typischer Alkaloide und möglicherweise für die Anwesenheit von Estern, Ketonen

bzw. Lactonen bestimmter Struktur. Nach einer Übersicht von FARNSWORTH (45) liefern nämlich auch eine Reihe von nichtstickstoffhaltigen Substanzen, wie z.B. α -Pyrone, Cumarine oder alkylierte Hydroxyflavone, ja möglicherweise allgemein Verbindungen, die eine konjugierte Carbonylfunktion im Molekül besitzen, mit Dragendorff eine positive Reaktion. Die Tatsache, daß diese Verbindungen nach Abtrennung der "Alkaloidfraktion" in der Terpenfraktion erschienen, sprach ebenfalls gegen die Alkaloidnatur der beiden Verbinden vom $R_f = 0.57$ und 0.44 .



Anfärbung mit:

a = Vanillin- H_2SO_4 (im Tageslicht)

b = Essigsäureanhydrid- H_2SO_4 (UV 360 nm)

c = essigs. Dragendorff (Tageslicht)

Laufmittel: Benzol - Äthylacetat (1:1)

Abb. 5

Dünnschichtchromatogramm des Terpengemisches (Fraktion B)

Kieselgel 60 GF₂₅₄

2.23 Präparative Auftrennung des Terpengemisches (Fraktion B)

Die weitere Trennung der Fraktion B (Terpengemisch) erfolgte an Aluminiumoxydsäulen mit Hilfe der Gradienten-Elutionstechnik unter Einsatz von Benzol-Chloroform, Chloroform und Chloroform-Methanol-Mischungen als Eluiermittel. Der Verlauf der Trennung ist in Abb. 6, S.22, dargestellt. Aus den Fraktionen 81 - 84 wurde durch Elution mit Chloroform-Methanol (99:1) eine nahezu reine Substanz erhalten, die nach Umlösen aus Äther/Petroläther in Form von farblosen Drusen (B_1) kristallisierte. Um die für die Spektroskopie geforderte, absolute Reinheit der Verbindung zu gewährleisten, führten wir eine weitere Reinigung durch präparative Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten GF₂₅₄ mit Benzol-Äthylacetat (1:1) als Laufmittel durch. Die Verbindung B_1 mit dem Schmelzpunkt 240 - 245°C, hatte im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1) einen $R_f = 0.53$, im Laufmittel Chloroform-Methanol (100:2) einen $R_f = 0.33$ und im System Chloroform-Methanol (10:2) einen $R_f = 0.95$. Die zweite mit Dragendorff positive Substanz, die in Fraktion B enthalten war und im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1) einen $R_f = 0.44$ aufwies, konnte nicht rein erhalten werden.

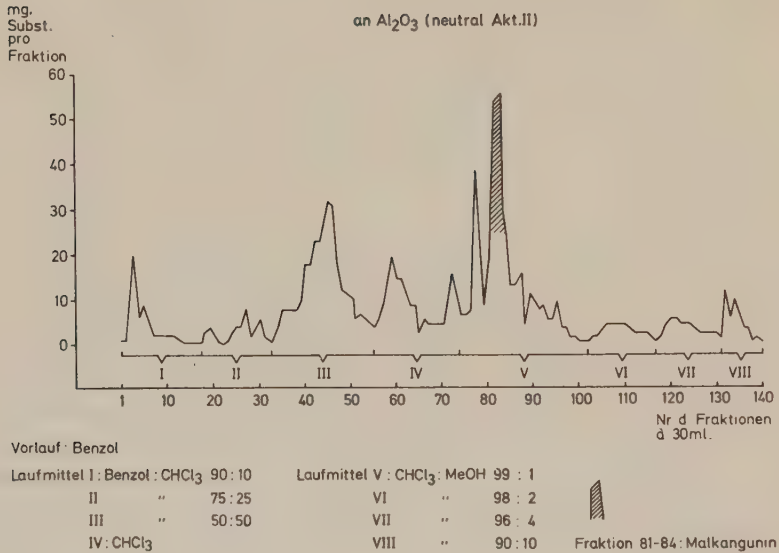


Abb. 6

Säulenchromatographie der Fraktion B (Terpengemisch)

2.24 Präparative Auftrennung des Rohalkaloidgemisches (Fraktion A)

Durch Säulenchromatographie an Kieselgel und Chloroform als Eluans konnten die Alkaloide A_1 , A_2 , A_3 und A_4 (= A.g.m.0) von den Hauptverunreinigungen und von den Alkaloiden mit mittleren (= A.g.m.M) bis niederen R_f -Werten (= A.g.m.U) abgetrennt werden. Die letzteren ließen sich aus der gleichen Säule mit Chloroform-Methanol (9:1) eluieren. Der Elutionsverlauf ist in Abb. 7, S. 24, zusammengefaßt. Aus der Fraktion 74 - 82 kristallisierten nach Umlösen aus Äther/Petroläther lange, weiße Nadeln, die durch Dünnschichtchromatographie

als Alkaloid A_2 identifiziert werden konnten. Die weitere Reinigung von A_2 erfolgte durch präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1) und durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol (Schmp. 245 - 249°C).

Die Mutterlauge von A_2 und das Alkaloidgemisch O (A.gm.O) wurde ebenfalls durch präparative Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel GF₂₅₄ im Laufmittel Chloroform-Methanol (99:1) von den im UV (360 nm) hellblau fluoreszierenden Begleitsubstanzen abgetrennt.

Die Trennung der Alkaloide untereinander erfolgte durch präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel GF₂₅₄ im Laufmittel Benzol-Äthylacetat (1:1). Die Substanzen waren auf Grund ihrer Fluoreszenzminderung bei 254 nm erkennbar. A_1 kristallisierte schließlich aus Methanol und wurde aus Äthanol umkristallisiert (Schmp. 184 - 185°C).

A_3 lieferte nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol lange Nadeln vom Schmp. 275 - 283°C.

Insgesamt wurden aus dem Terpengemisch (Fraktion B) eine und aus dem Alkaloidgemisch (Fraktion A) drei Substanzen in kristalliner Form isoliert. Wir haben ihnen die nachstehenden Namen gegeben.

<u>Substanzen</u>	<u>Schmelzpunkt (°C)</u>	<u>Ausbeuten (ca.mg)</u>
B_1 (Malkangunin)	240 - 245	30
A_2 (Celapanin)	245 - 249	15
A_1 (Celapanigin)	184 - 185	3
A_3 (Celapagin)	275 - 283	2

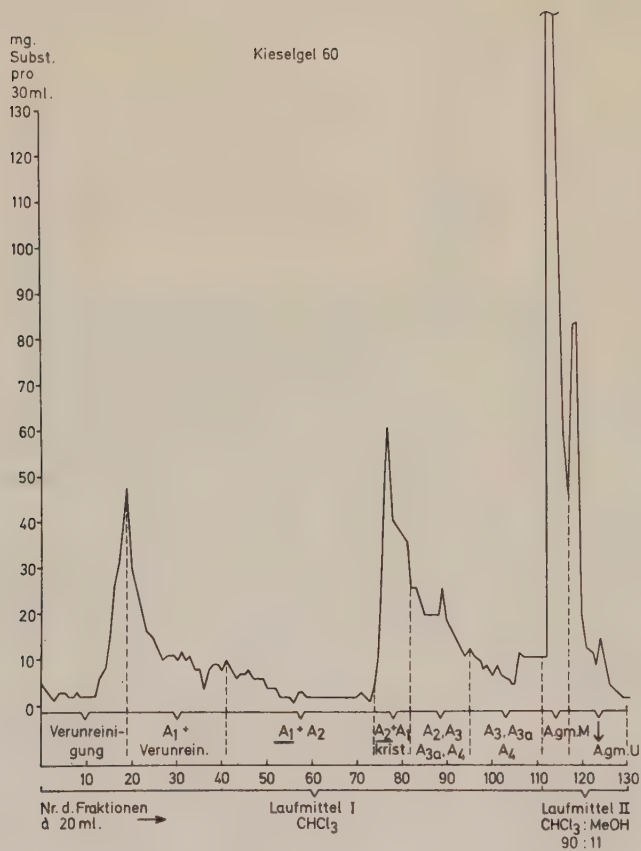


Abb. 7

Säulenchromatographie der Fraktion A (Rohalkaloidgemisch)

2.30 Strukturaufklärung von Substanz B₁ (Malkangunin)

Die Verbindung gibt, wie bereits erwähnt, mit Dragendorffs Reagens eine positive Reaktion, sie liefert außerdem mit Terpennachweis-Reagentien typische Färbungen und spricht auch auf Ester-Reagenzien an.

Aus der C-H-Analyse und dem hochauflösenden Massenspektrum konnte das Molekulargewicht von 432,215 und damit die Summenformel $C_{24}H_{32}O_7$ ermittelt werden. Sie enthält demnach keinen Stickstoff. Aus der Summenformel geht gleichzeitig hervor, daß die Substanz neun Doppelbindungsäquivalente aufweist. Ihre optische Drehung beträgt in Chloroform bei einer Konzentration von 1.077 $\alpha = -58.8$.

Das UV-Spektrum (siehe Abb. 22, S. 52) zeigt die Anwesenheit eines Chromophores, der auf Grund seiner Lage ($\epsilon = 229, 272, 280$ nm) und der relativ geringen Intensität der Maxima ($\epsilon = 6380, 600, 506$) einem Benzoessäurederivat zukommen sollte.

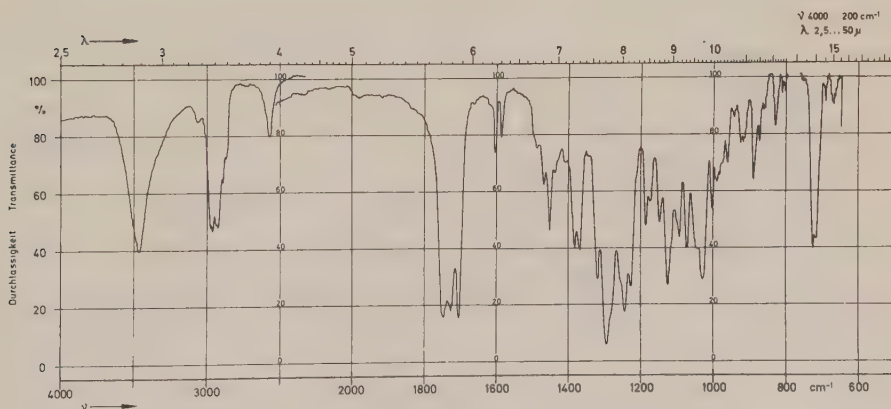


Abb. 8

IR-Spektrum von Malkangunin (B₁) (KBr)

Das IR-Spektrum (Abb. 8, S. 25) liefert bei 3460 cm^{-1} HO-Valenzschwingungen mit Wasserstoffbrückenbeziehungen. Zwei starke Banden bei 2990 und 2920 cm^{-1} , sowie C-H-Valenzschwingungen von $-\text{CH}_2-$ und $-\text{CH}_3$ -Gruppen, sprechen für ein stark hydriertes System. Die zugehörigen C-H-Deformationsschwingungen treten im Bereich $1470 - 1430\text{ cm}^{-1}$ auf. Einen Hinweis auf eine Isopropylseitenkette ($\text{>C} \begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$) gibt ein annähernd symmetrisches Dublett bei 1370 und 1380 cm^{-1} . Die starke Carbonylbande bei 1750 cm^{-1} kann einem gesättigten Ester, eine zweite C=O-Bande bei 1725 cm^{-1} einer Aryl-ester-Struktur zugeordnet werden. Die Anwesenheit von Estergruppen wird auch durch starke C-O-Valenzschwingungen im Bereich von 1300 bis 1030 cm^{-1} wahrscheinlich. Zwei Absorptionen im "fingerprint"-Bereich zwischen 1185 und 950 cm^{-1} sowie Skelettschwingungen bei 1575 und 1600 cm^{-1} deuten auf ein aromatisches System. Eine starke C-H out-of-plane Schwingung bei 720 cm^{-1} läßt einen monosubstituierten Benzolring vermuten.

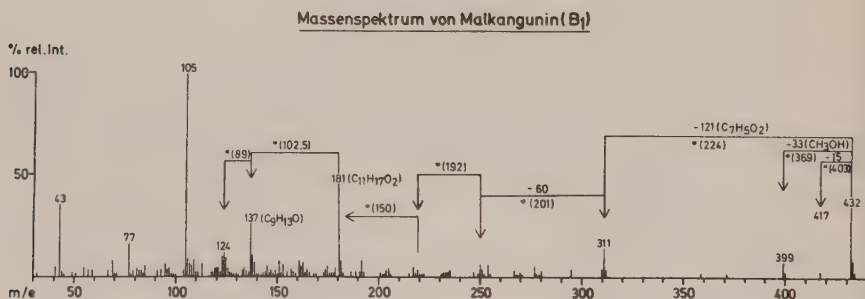


Abb. 9

Im Massenspektrum (Abb. 9, S. 26) erscheint der Molekülpeak bei $M^+ = 432$. Ausgehend von diesem, wird ein Bruchstück $M = 121$, entsprechend einem Benzoessäureester, abgespalten. Der intensive Peak und zugleich "base peak" bei m/e 105 ist dem Benzoylkation zuzuordnen. Dieser zerfällt weiter nach m/e 77, dem Phenylkation. Das Restmolekül mit m/e 311 ($= 432 - 121$) spaltet die Masse von 60 ab und liefert m/e 250 bzw. 251. Diese Abspaltung weist auf einen Essigsäureester hin. Entsprechend findet man auch das Fragment m/e 43 ($CH_3=C=O^+$). m/e 251 bzw. m/e 219 und die folgenden Intensitäten m/e 181 ($C_{11}H_{17}O_2$), m/e 137 ($C_9H_{13}O$) und m/e 124 sind dem Grundalkohol zugehörig. Die Summenformeln wurden durch Hochauflösung der entsprechenden Peaks ermittelt. Das daraus abgeleitete Zerfallschema ist in Abb. 10 dargestellt (S.28). Die Zuordnung der Massendifferenzen wurde durch das Auftreten von metastabilen Peaks bestätigt. Solche Zerfälle sind in allen folgenden Fragmentierungsschemata mit einem(*) versehen. Für die Teilbruchstücke m/e 219, m/e 181, m/e 137 und m/e 124 werden mögliche Strukturen angegeben. Aus dem Massenspektrum läßt sich ein sesquiterpenoider Grundkörper mit Estergruppen ableiten.

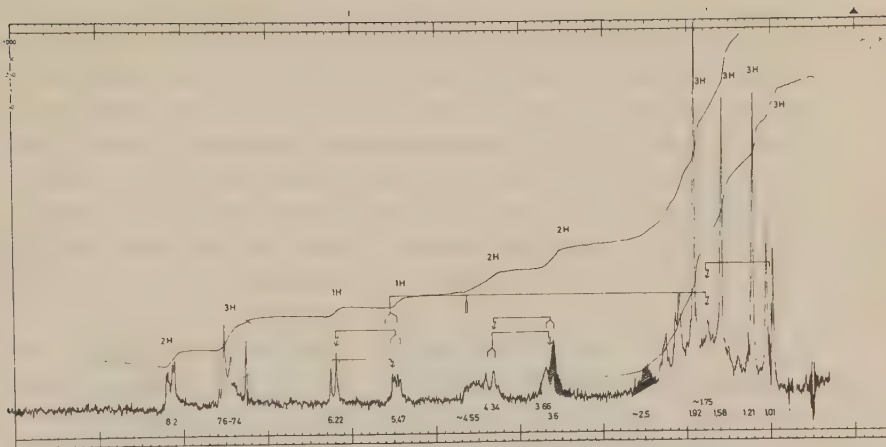


Abb. 11

^1H -NMR-Spektrum von Malkangunin (B_1) (CHCl_3 ; 100 MHz)

Das ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 11) bestätigt diese Grundstruktur und liefert zusätzlich folgende Information. Die Resonanzen einer CH_3 -Gruppe an einem tertiären C-Atom und von zwei weiteren Methylgruppen an einem quartären C-Atom erscheinen als Dublett bei $\delta = 1.01$ ppm mit $J = 8$ Hz bzw. als zwei scharfe Singulette bei $\delta = 1.21$ und $\delta = 1.58$ ppm. Sie integrieren für je drei Protonen. Deutlich erkennbar sind die Methylgruppe eines Acetylrestes bei $\delta = 1.92$ ppm und die Protonen eines Benzoylrestes mit den charakteristischen Multipletten mit Zentrum bei $\delta = 8.16$ ppm und $\delta = 7.5$ ppm. Die ortho-Kopplung beträgt ca. 7 Hz, die meta-Kopplung ca. 2 Hz. Die Signale bei $\delta = 5.47$ ppm mit $J = 3$ bzw. 7 Hz und $\delta = 6.22$ ppm mit $J = 7$ Hz deuten auf Grund ihrer gleichen Kopplungsgröße auf benachbarte Protonen hin. Ihre, bei relativ niedrigem Feld auftretende chemische Verschiebung, könnte von der Nachbarschaft der beiden im Molekül vorhandenen Estergruppierungen

stammen. Durch Doppelresonanz-Experimente zwischen diesen beiden Signalen konnte diese Annahme bestätigt werden. Ein weiteres, dieser Protonensequenz zugehöriges Signal konnte durch Entkoppeln des Protons bei $\delta = 1.75$ ppm ermittelt werden. Somit scheint folgende Teilstruktur: $-\text{CH}-\text{CHOAc}-\text{CHOAc}-$ wahrscheinlich. Betrachtet man das in der Teilstruktur mittelständige Proton bei $\delta = 5.47$ ppm mit $J = 7$ bzw. 3 Hz, so koppelt dieses mit 7 Hz mit dem rechts stehenden Proton $\delta = 6.22$ ppm, das als Dublett erscheint. Gleichzeitig koppelt es mit 3 Hz mit dem links davon stehenden Wasserstoff, der bei hohem Feld ($\delta = 1.75$ ppm) ebenfalls als Dublett auftritt. Nach Deuteriumaustausch kann die Anzahl der in der Verbindung vorhandenen Hydroxylgruppen mit zwei festgelegt werden. Im Spektrum mit Deuteriumaustausch treten zwei Dublette bei $\delta = 4.34$ und $\delta = 3.66$ ppm für je 1 Proton mit $J = 12$ Hz auf. Sie können auf Grund von Doppelresonanz-Experimenten einer rotationsgehinderten angulären- $\text{CH}_2\text{-OH}$ -Gruppe zugeordnet werden.

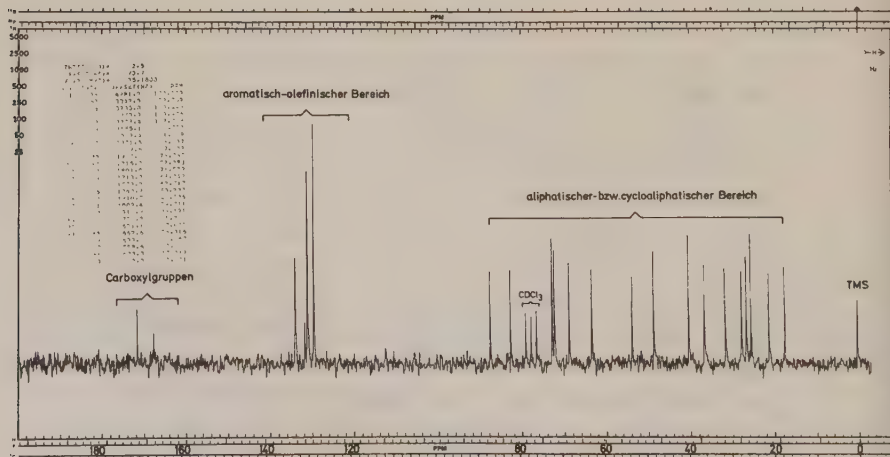


Abb. 12

^{13}C -NMR-Spektrum von Malkangunin (B_1) (CDCl_3)

Im protonenrauschentkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum (Abb. 12, S.30) finden sich zwischen 17 und 87 ppm 16 Signale für aliphatische bzw. cycloaliphatische Kohlenstoffatome. Im aromatischen Bereich treten bei 128 - 132 ppm vier von den Phenylkohlenstoffen der Benzoesäure stammenden Resonanzen auf. Zwei intensitätsschwache Linien bei 167 bzw. 170 ppm sind Carboxylkohlenstoffen zuzuordnen. Nach Abzug der Ester ergibt sich somit für den aliphatischen bzw. cycloaliphatischen Grundalkohol ein Kohlenstoffgerüst mit 15 C-Atomen, wie es für sesquiterpenoide Verbindungen charakteristisch ist.

2.301 Hydrolyse der Substanz B_1 (Malkangunin)

Nach Methanolyse von B_1 und nachfolgende Reinigung des Reaktionsgemisches über eine Kieselgelsäule konnte der Benzoesäuremethylester (Kp. 199°C) und eine aus Äthylacetat kristallisierbare Verbindung (B_1 -Hy) vom Schmp. 168°C erhalten werden. Das hochauflösende Massenspektrum von B_1 -Hy zeigt einen Molekülpeak von M^+ 286.169 an, entsprechend einer Summenformel von $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_5$. Man gelangt hierzu auch, wenn man von der Summenformel von B_1 den Benzoyl- und Acetylrest abzieht. Die Verbindung B_1 -Hy dürfte demnach den kristallinen Sesquiterpengrundalkohol von B_1 darstellen.

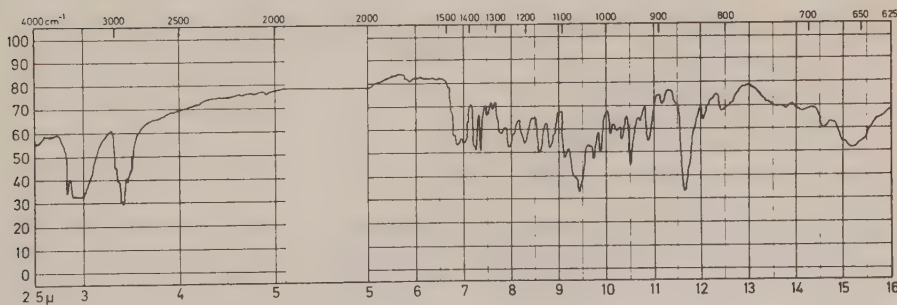


Abb. 13

IR-Spektrum von B_1 -Hy (Malkanguniol) (KBr)

Im IR-Spektrum von B₁-Hy (Abb. 13, S. 31) tritt im Vergleich zu B₁ eine wesentlich breitere HO-Valenzschwingungsbande ($3450 - 3340 \text{ cm}^{-1}$) auf. Die Ester- und Aromatenbanden sind verschwunden. Zwischen $2940 - 2900 \text{ cm}^{-1}$ treten wiederum deutliche C-H-Valenzschwingungen von $-\text{CH}_2-$ und CH_3 -Gruppen auf. Die Lage des symmetrischen Dubletts der $=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ -Gruppe (1380 und 1370 cm^{-1}) ist mit der entsprechenden Gruppierung in B₁ identisch. Die intensitätsstarke Schwingung bei 1060 cm^{-1} kann C-O-Valenzschwingungen von C-OH-Gruppen zugeordnet werden.

Das Massenspektrum von B₁-Hy ist auf S.89 (Experim.Teil) aufgeführt. Die Abspaltung von zwei Mol Wasser aus dem Molekül deutet auf die alkoholische Natur der Verbindung. Das Ion m/e 250 und alle weiteren intensiven Folgeionen sind mit den Peaks im Massenspektrum von B₁ identisch. Das Zerfallsschema kann daher ab m/e 250 wie bei B₁ formuliert werden.

Das NMR-Spektrum (siehe Tab. 2, S. 33) von B₁-Hy weist bei niedrigem Feld (über $\delta = 5.0 \text{ ppm}$) keine weiteren Resonanzen auf, d.h. aromatische Protonen fehlen. Es enthält vier mit D₂O austauschbare Hydroxyle. Die drei vorhandenen Methylgruppen bei $\delta = 0.96, 1.20$ und 1.61 ppm haben nahezu identische Positionen und Hyperfeinstrukturen wie in der Verbindung B₁. Die Zuordnungen der Protonen sind in Tabelle 2, S.33, zusammengefaßt.

T a b e l l e 2

Zuordnung der NMR-Spektraldaten von B₁-Hy
(δ in ppm, 100 MHz CDCl₃)

	δ	J(Hz)	Protonen
C(1) -H	4.5 ⁺⁺	dd $J_{ax/ax} = 9$ $J_{ax/eq} = 3$	1
C(2)-, C(3)-, C(6)-2H u. C(4)-H	im Bereich 1.4 - 2.2		7
C(7) -H	2.28	m	1
C(8) -H	4.1 ^{* ++}	m	1
C(9) -H	4.34 ^{* ++}	d $J_{8,9} = 12$	1
C(12)-3H	1.61	s	3
C(13)-3H	1.20	s	3
C(14)-3H	0.96	d $J_{4,14} = 7$	3
C(15)-H	3.5 ⁺⁺	d $J_{15,15'} = 12$	2
C(15)-H'	3.4 ⁺⁺	d $J_{15,15'} = 12$	

Vier mit D₂O austauschbare OH-Gruppen im Bereich $\delta = 3.1 - 4.3$ ppm

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

⁺⁺ Die Lage wurde nach Deuteriumaustausch bestimmt.

2.302 Nachweis der Zugehörigkeit des Sesquiterpenalkohols zur Eudalingruppe

Nach GILDEMEISTER und HOFFMANN (46) werden die tricyclischen Sesquiterpen-Hydroaromaten in Cadalin-, Eudalin- und Azulenbildner eingeteilt.

Dieses Einteilungsprinzip erfolgte auf Grund der nach Dehydrierung erhaltenen Naphtalingerüste. So erhielten RUZICKA und MEYER (47) aus Cadinen durch Dehydrierung mit Schwefel das Cadalin(1,6-Dimethyl-4-isopropyl-naphtalin). Bei der in gleicher Weise durchgeführten Dehydrierung von Eudesmol und Selinen erhielten RUZICKA und Mitarb. (48) das Eudalin, ein 1-Methyl-7-isopropylnaphtalin.

Die im Mikromaßstab durchgeführte Dehydrierung von B₁ (Malkangunin) mit Palladium auf Bariumsulfat nach der Thermofraktographie-Methode von STAHL (49) lieferte ebenfalls Eudalin. Die Identifizierung des Reaktionsproduktes erfolgte durch Vergleich des UV-Remissionsspektrums mit dem einer authentischen Eudalinprobe. Die unter analogen Bedingungen durchgeführten Dehydrierungen von Eudesmol und Selinen ergaben das gleiche Reaktionsprodukt. Das Spektrum (siehe Abb. 14, S. 35) zeigt zwei starke Banden bei $\lambda = 225 \text{ nm}$ (¹B_b Bande) und bei $\lambda = 280 \text{ nm}$ (¹L_a Bande). Die ¹L_b Banden werden unter diesen Aufnahmebedingungen nicht mehr aufgelöst, sie erscheinen als Schulter bei $\lambda = 315 - 320 \text{ nm}$. Die 1,7-Stellung der Alkylsubstituenten am Naphtalinkörper ist durch das Remissionsspektrum abgesichert. Bei einer 1,8-Stellung der Alkylreste wäre die Bande des transversal polarisierten ¹A $\rightarrow$ ¹L_a Übergangs bathochrom verschoben. Einen zusätzlichen Beweis lieferte das Remissionsspektrum des Dehydrierungsproduktes von Santonin, in dem beide Alkylgruppen die gleiche 1,7-Stellung am Naphtalinkörper einnehmen wie sie auch im Malkangunin vorliegen (siehe Struktur Abb. 15, S. 37).

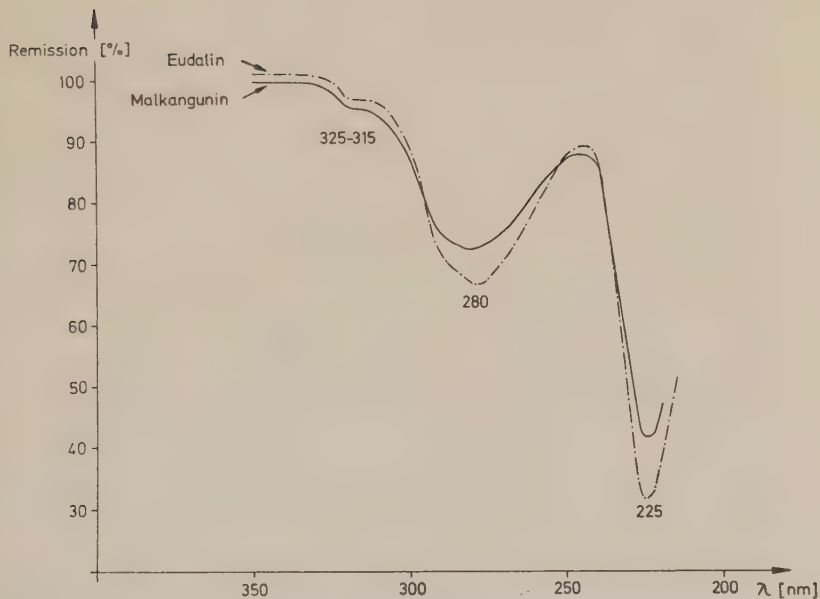


Abb. 14

Remissionsspektrum des dehydrierten Malkangunins im
Vergleich zu Endalin

2.303 Struktur von Substanz B₁ (Malkangunin)

UV-, IR-, NMR- und Massenspektren bestätigen das Vorhandensein eines Benzoyl- und eines Acetylrestes.

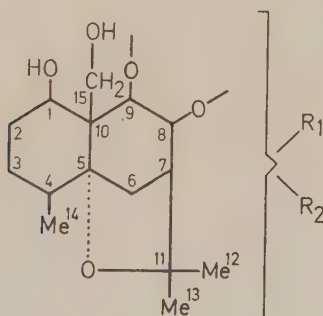
Die Summenformel $C_{24}H_{32}O_7$ zeigt, daß die Verbindung neun Doppelbindungsäquivalente (D.B.Ä.) aufweist. Davon entfallen sechs auf die Ester. Da auf Grund des ^{13}C -NMR-Spektrums keine weiteren olefinischen oder aromatischen Bindungen vor-

handen sind, bleibt für die restlichen drei D.B.Ä. nur die Möglichkeit von drei Ringschlüssen.

Aus dem NMR geht hervor, daß zwei Hydroxyle in veresterter Form und weitere zwei frei vorliegen. Dies wird auch durch das NMR-Spektrum des Hydrolyseproduktes B_1 -Hy bestätigt, das vier freie Hydroxylgruppen aufweist. Somit liegen sechs Sauerstoffatome als Hydroxyle bzw. als Ester vor. Die verbleibende Sauerstofffunktion muß deshalb ätherartig in das Grundgerüst eingebaut sein. Folglich kann man in B_1 einen tricyclischen, vierwertigen Alkohol erwarten, der mit einem Mol Benzoe- und einem Mol Essigsäure verestert ist. Nach dem bei der Dehydrierung erhaltenen Reaktionsprodukt gehört der Sesquiterpenalkohol der Eudesmanreihe an. Das Massenspektrum von B_1 und B_1 -Hy zeigt die charakteristische Fragmentierungsfolge m/e 181, m/e 137 und m/e 124. Die gleiche Folge wurde kürzlich von DEN HERTOOG, NANAVALI und Mitarb. (18) für Malkanguniol, ein ebenfalls aus *Celastrus paniculatus* isoliertes Sesquiterpentetrol vom Dihydro- β -agarofurantyp beschrieben. Mit der uns von Dr. Nanavati freundlicherweise zur Verfügung gestellten Reinsubstanz konnte durch Mischschmelzpunkt (168°C , keine Depression), Dünnschichtchromatographie in drei verschiedenen Systemen und Vergleich der NMR-Spektren der Identitätsnachweis mit der Substanz B_1 -Hy erbracht werden. Die Verbindung B_1 ist somit der Acetyl-Benzoyl-ester von Malkanuniol.

Aus der chemischen Verschiebung und Entkopplungsexperimenten mit C(7)-H im NMR-Spektrum läßt sich eine Nachbarstellung der Ester ableiten (siehe Teilstruktur S. 30). Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Benzoesäure mit dem C(9)-OH verestert ist, da infolge des induktiven Effekts des Aromaten und des Anisotropie-Effekts des Fünfringsauerstoffs das Proton am C(9)-H wesentlich stärker nach tieferem Feld ($\delta = 6.22$ ppm) verschoben ist als das Proton am C(8) ($\delta = 5.47$ ppm), an dem gleichzeitig die Essigestergruppierung sitzt. Die unterschiedliche Lage der beiden Methylgruppen am C(11) ($\delta = 1.58, 1.21$ ppm) im NMR-Spektrum kann dadurch

erklärt werden, daß die eine von ihnen in den Einfluß des C(8)-Sauerstoffs gelangt und nach niederem Feld verschoben wird. Für Malkangunin (B_1) schlagen wir deshalb die Struktur der Abb. 15 vor. Die Zuordnung der Protonenresonanzen des NMR-Spektrums wird in Tab. 3, S. 38, gegeben.



Malkangunin

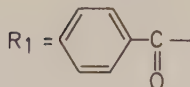


Abb. 15

Struktur von Malkangunin und Malkanguniol

T a b e l l e 3

NMR-Spektraldaten von Malkangunin (δ in ppm, 100 MHz, CDCl_3)

	δ		$J(\text{Hz})$	Protonen
C(1)- H	4.55 *	dd	$J_{\text{ax/ax}} = 9$ $J_{\text{ax/eq}} = 3$	1
C(2)-2H,	im Bereich			
C(3)-2H	1.4 - 2.2	m		
C(4)- H	1.75 *	m		7
C(6)-2H i.Ber.	1.4 - 2.2	m		
C(7)- H	1.75 *	m		
C(8)- H	5.47 *	dd	$J_{8,9} = 7$ $J_{7,8} = 3$	1
C(9)- H	6.22 *	d	$J_{8,9} = 7$	1
C(12)-3H	1.58	s		3
C(13)-3H	1.21	s		3
C(14)-3H	1.01 *	d	$J_{4,14} = 7$	3
C(15)- H	4.34 * ++	d	$J_{15,15'} = 12$	
C(15)- H'	3.66 * ++	d	$J_{15,15'} = 12$	2
C(1)-OH	2.5 **			
C(15)-OH	und 3.6 **			2
Acetylrest:				
CH_3COO^-	1.92	s		3
Benzoylrest:				
C(2') u. C(6')-H	8.2		$J_{\text{ortho } 2',3'} = 7$	2
C(3')-H, C(4')-H,			$J_{\text{meta } 2',4'} = 2$	
C(5')-H	7.6 - 7.4			3

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

++ Die Lage wurde nach Deuteriumaustausch bestimmt.

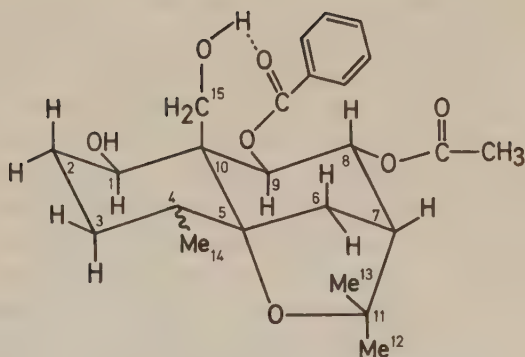
** Signale verschwinden nach Deuteriumzusatz.

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

2.304 Zur Stereochemie von Malkangunin

Die Kopplung zwischen H-8 und H-9 beträgt 7 Hz. Nach einer kernresonanzmagnetischen Arbeit über die Konfiguration von Cyclohexandiolen von LEMIEUX und Mitarb. (50,51) weist diese Kopplungskonstante darauf hin, daß beide Protonen axial/axial stehen. Daraus ergibt sich für beide Wasserstoffe am C(9) und C(8) eine axiale Lage. Die Kopplung $J_{7,8} = 3$ Hz (Dieederwinkel 55°) läßt auf eine äquatorial-axiale Stellung der beteiligten Protonen schließen. Aus der axialen Lage des H-8 folgt deshalb eine äquatoriale Stellung des Protons an C(7). Nimmt man für das H-7 eine äquatoriale Lage an, so kann der Furanring C aus stereochemischen Gründen nur durch zwei axiale Bindungen an den Cyclohexanring B fixiert sein. Dies ist nur dann möglich, wenn beide Cyclohexanringe miteinander trans-verknüpft sind.

Dieses Ergebnis ist in Übereinstimmung mit den kürzlich durch Röntgenstrukturanalyse ermittelten Konformationen von Maytol, $C_{15}H_{26}O_8$, und Desoxymaytol, $C_{15}H_{26}O_7$, aus *Maytenus ovatus* (41), Euonyminol und Isoeuonyminol $C_{15}H_{26}O_{10}$ aus *Euonymus sieboldiana* Blume (26). Diese Alkoholkomponenten von Esteralkaloiden aus Celastraceen weisen ebenfalls eine trans-Verknüpfung der in Sesselform konfigurierten Cyclohexanringe auf. Aus der Stellung der Wasserstoffe am C(9) und C(8) folgt somit eine äquatoriale Lage sowohl für den Ester am C(9) als auch am C(8). Aus der unterschiedlichen chemischen Verschiebung von C(15)-H, -H' und der geminalen Kopplung $J_{15,15'} = 12$ Hz kann man für die anguläre CH_2 -OH-Gruppe am C(10) annehmen, daß sie durch eine Wasserstoffbrückenbindung mit der Carbonylgruppe des äquatorial stehenden Esters am C(9) rotationsgehindert ist. Die Kopplungskonstanten des C(1)-H ($J = 3/9$ Hz) sprechen für einen axial stehenden Wasserstoff, so daß dann die OH-Gruppe am C(1) äquatorial stehen sollte. Daraus läßt sich die in Abb. 16, S. 40, gegebene Konformation ableiten.



Malkangunin

Abb. 16

Stereochemische Struktur von Malkangunin

2.31 Strukturaufklärung von Substanz A₂ (Celapanin)

Die CH-Analyse und das hochauflösende Massenspektrum lieferten für A₂ ein Molekulargewicht von 596,226 entsprechend einer Summenformel von C₃₀H₃₅O₁₀N. Die optische Drehung beträgt in Chloroform $\alpha = -64.7^\circ$.

Das UV-Spektrum (siehe Abb. 22, S. 52) von A₂ mit dem Maximum bei 218 nm und Schultern bei 257 nm, 263 nm und 271 nm ($\epsilon = 14\,328, 4\,936, 4\,264, 3\,072$) weist auf eine Nicotinoylgruppierung hin (52). Auffallend ist jedoch der hohe ϵ -Wert bei 218 nm und eine Schulter bei 249 nm ($\epsilon = 5\,006$). Nach den später zu diskutierenden NMR- und Massenspektren können diese Maxima einem 3-Furancarbonsäureester zugeordnet werden¹⁾.

- 1) 1912 isolierte erstmalig ROGERSON (53) aus der Wurzelrinde von *Euonymus atropurpurea* JACQ. eine β -Furancarbonsäure. Sie wurde 1953 von BEROZA (37) als Bestandteil der Esteralkaloide Wilforgin und Wilfortrin wiedergefunden.

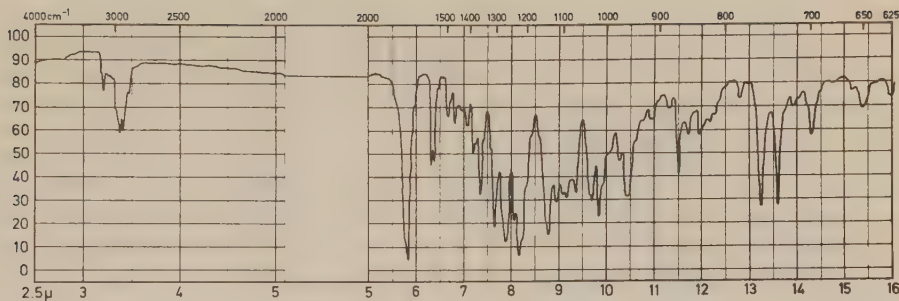
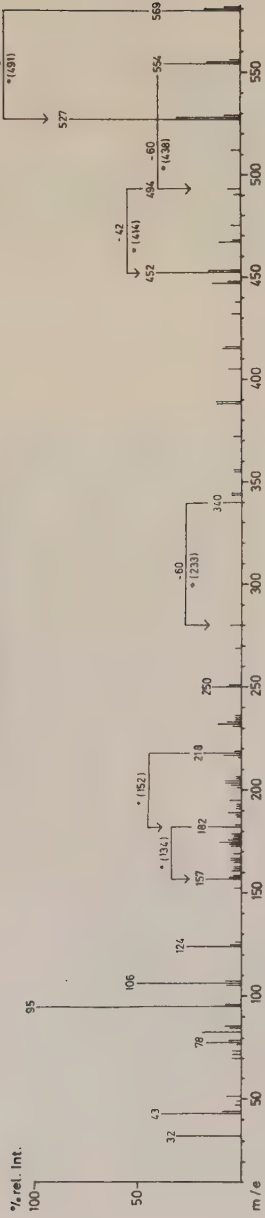


Abb. 17

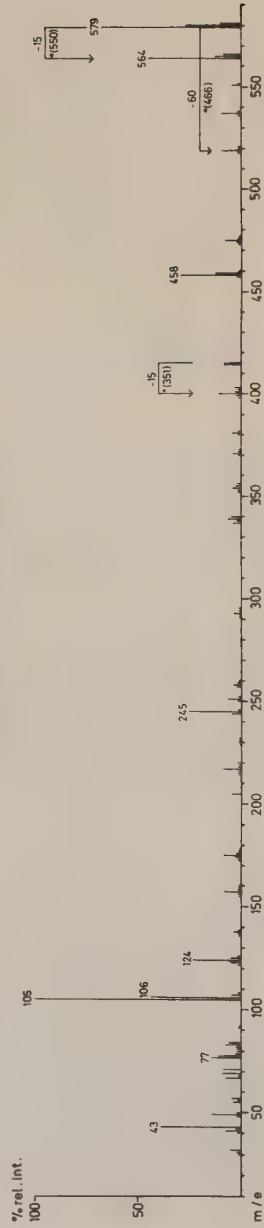
IR-Spektrum von Celapanin

Das IR-Spektrum (siehe Abb. 17) zeigt im Bereich 3120 cm^{-1} die Valenzschwingungen von Aryl- oder ungesättigten CH-Gruppen und zwischen $2980 - 2940\text{ cm}^{-1}$ die Schwingungen von gesättigten CH-Gruppen auf. Alkoholische oder phenolische OH-Gruppen scheinen zu fehlen. Zwei Schwingungen bei 1360 und 1385 cm^{-1} geben einen Hinweis auf eine Isopropylgruppierung. Ihr symmetrischer Dublettcharakter ist aber hier nicht so ausgeprägt wie beim Malkangunin oder Malkanguniol. Deutlich erscheinen die Banden von Aryl- (1730 cm^{-1}) und gesättigten Estern (1740 cm^{-1}). Die zugehörigen C-O-Valenzschwingungen treten bei 1220 , 1266 und 1143 cm^{-1} auf, wobei die erstgenannte Bande Acetyl- und die beiden anderen Nicotinoyl- bzw. Furanoyl-Estergruppen zugeordnet werden können. Auf das Vorliegen aromatischer Verbindungen weisen zwei intensive Banden bei 1590 und 1560 cm^{-1} und weitere Schwingungen zwischen 1220 und 960 cm^{-1} hin. Über das Substitutionsmuster der Aromaten geben die γ -out of plane Schwingungen bei 870 cm^{-1} (zwei benachbarte oder ein isoliertes H) und 755 und 735 cm^{-1} (drei benachbarte H) Aufschluß. Die Schwingungen bei 2980 , 1590 , 1560 , 1500 , 1031 , 1016 und 735 cm^{-1} dürften einem Pyridinderivat (54) zuzuordnen sein.

Massenspektrum von Celapanin (A_2)



Massenspektrum von Celapanigin (A_1)



Massenspektrum von Celapagin (A_3)

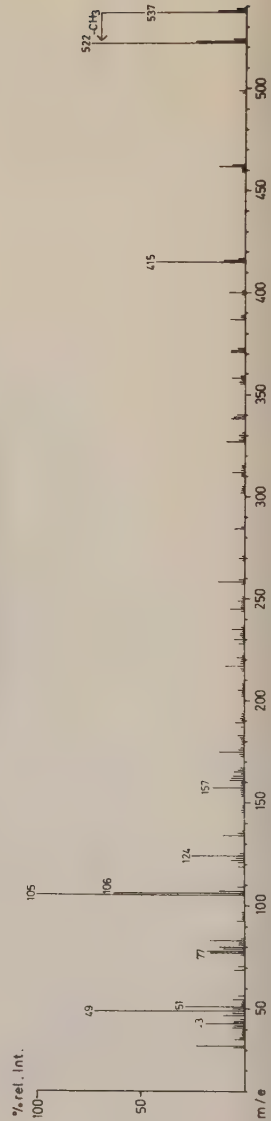


Abb. 18

Aus dem Massenspektrum geht hervor, daß Celapanin neben $M-15(CH_3)$ die Masseneinheiten $60(CH_3COOH)$, $43(CH_3C=O)$, $106(C_6H_4NO)$ und $95(C_5H_3O_2)$ verliert. Die Bruchstücke erscheinen als intensive Peaks bei m/e 106 und m/e 78. Diese Fragmentierungsfolge entspricht einem Nicotinoylanteil. Der intensivste Peak m/e 95 kann einer Furanöylgruppe zugeordnet werden. Der Verlust der Masseneinheiten 60 und 43 und das Auftreten von m/e 43 weisen auf die Anwesenheit von 2 Mol Essigsäure bzw. Acetylresten hin. Die Zerfälle ab m/e 250 scheinen dem Grundalkohol anzugehören, der in ähnlicher Weise fragmentiert wie Malkanguniol. Ein mögliches Zerfallschema wird in Abb. 20, S. 44, gegeben.

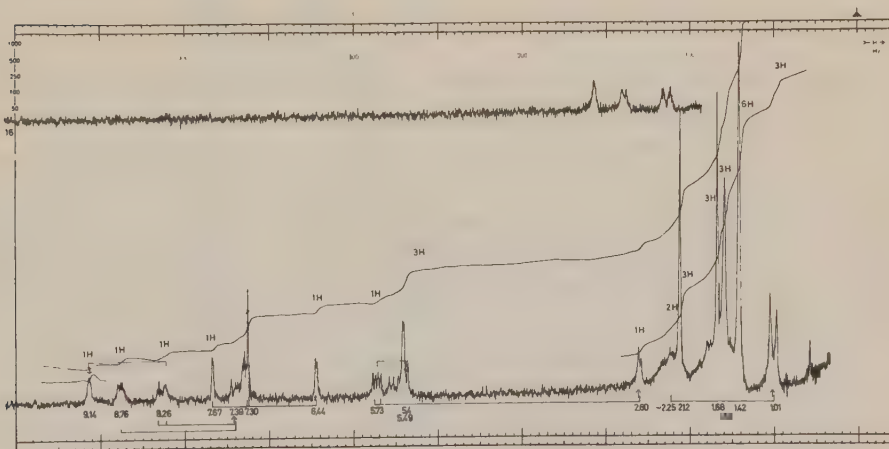


Abb. 19

NMR-Spektrum von Celapanin (A_2) ($CHCl_3$, 100 MHz)

Die NMR-Spektren von A_2 weisen in den chemischen Verschiebungen große Ähnlichkeit mit denen von B_1 auf, woraus sich ein dem Malkangunin verwandte Grundstruktur ableiten läßt. Die Ähnlichkeit im Grundgerüst geht auch aus einem Vergleich der chemischen Verschiebungen der Methyl- und Acetylgruppen der Substanz A_2 mit Malkangunin hervor (s.Tab.4, S. 45).

Zerfallsschema von Celapanin

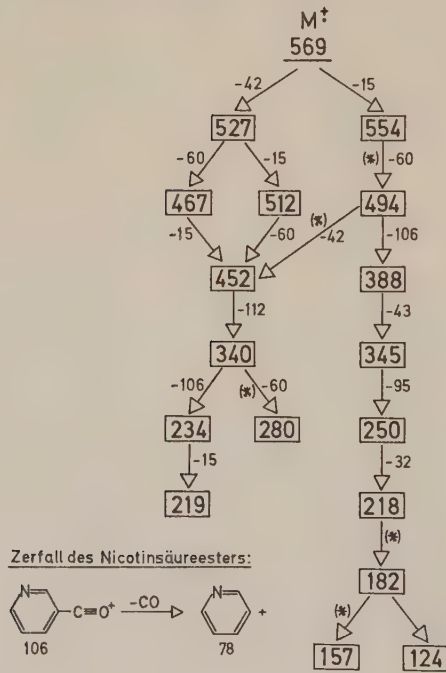


Abb. 20

T a b e l l e 4

Vergleich der chemischen Verschiebung der Methyl- und Acetylgruppen
in den NMR-Spektren (δ in ppm, CDCl_3 , 100 MHz)

von:	Methylreste:				Acetylreste:	
	C(12)	C(13)	C(14)	C(15)	C(8)	C(1)
Malkanguniol	1.61	1.20	0.69	-	-	-
Malkangunin	1.58	1.21	1.01	-	1.92	-
Celapanin	1.59	1.42	1.01	1.42	2.12	1.68
Celapanigin	1.61	1.45	1.04	1.49	1.92	1.67
Celapagin	1.60	1.44	1.01	1.38	-	1.64

Besonders deutliche Signale lieferte ein in Benzol aufgenommenes Spektrum. In ihm waren alle Protonen integrierbar. Im Gegensatz zu Malkangunin sind im Spektrum von A_2 keine mit D_2O austauschbaren Gruppen vorhanden. Es treten aber auch hier die Resonanzen einer CH_3 -Gruppe an einem tertiären ($\delta = 1.01$ ppm, d, $J = 7$ Hz) und von zwei Methylgruppen an einem quartären ($\delta = 1.59$ ppm, s; 1.42 ppm, s) C-Atom auf. Die Nachbarschaft des Dubletts bei $\delta = 1.01$ ppm mit dem Proton am tertiären C-Atom wurde durch Doppelresonanz-Experimente nachgewiesen. Sie deutet auf die gleiche Atomgruppierung am C(4) wie in Malkangunin hin. Im Vergleich zum Malkangunin ist das im hohen Feld auftretende Methylsignal der Isopropylgruppierung, vermutlich durch den Anisotropieeffekt einer Estergruppe am C(6), im Spektrum von A_2 nach tiefem Feld ($\delta = 1.42$ ppm) verschoben. Bei $\delta = 2.12$ ppm erscheint die Methylgruppe eines Acetylrestes. Zusätzlich treten im Vergleich zum Malkangunin zwei weitere Signale bei $\delta = 1.42$ und $\delta = 1.68$ ppm für Methylgruppen an quartären C-Atomen auf. Die CH_3 -Gruppe bei $\delta = 1.42$ ppm steht auf Grund ihrer Lage vermutlich angular. Deutlich erkennbar und durch Entkoppeln bestätigt, ist die charakteristische Signalfolge eines 3-substituierten Nicotinsäureesters ($\delta = 9.14, 8.26, 7.39$,

8.76 ppm) und eines β -Furanoylrestes ($\delta = 7.67, 6.44, 7.30$ ppm). Auf Grund der Lage, Hyperfeinstruktur und Entkopplungsexperimenten mit einem Dublett bei $\delta = 2.60$ ppm ($J = 3$ Hz), einem Quadrublett bei 5.73 ppm ($J = 3/7$ Hz) und einem weiteren Dublett bei 5.4 ppm ($J = 7$ Hz) läßt sich für diese Signale eine Nachbarstellung der zugehörigen Protonen ableiten. In Analogie zum Malkangunin ergibt sich deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit wiederum die Teilstruktur: -HC-HCOAc-HCOAc-. Die bei $\delta = 5.40$ und $\delta = 5.49$ ppm auftretenden Signale deuten auf Grund ihrer chemischen Verschiebung auf zwei zusätzliche Veresterungsstellen gegenüber dem Malkangunin hin. Aus dem Vergleich der Signale des axialen Protons am C(1) in Malkangunin ($\delta = 4.55$ ppm, dd, $J = 9/3$ Hz) mit den des entsprechenden Wasserstoffs in Substanz A₂ ($\delta = 5.49$ ppm, dd, $J = 10/5$ Hz) ergibt sich, daß das C(1)-OH (im Malkangunin in freier Form vorliegend) nun verestert ist. Das Singulett bei $\delta = 5.40$ ppm ist dem an C(6) stehenden Wasserstoff einer -CH-OR-Gruppierung zuzuordnen, da die chemische Verschiebung des C(7)-H ($\delta = 2.60$ ppm) nach tieferem Feld in Vergleich zum Malkangunin (C(7)-H: $\delta = 1.27$ ppm) auf eine veränderte Nachbarschaft hindeutet. (s. Tab. 6, S. 51).

2.311 Nachweis der Sesquiterpengrundstruktur

Um die Sesquiterpengrundstruktur festzulegen, wurde wie bei Malkangunin eine Dehydrierung nach der Thermofraktographie-Methode von STAHL (49) mit Pd/BaSO₄ durchgeführt. Die Identifizierung der Reaktionsprodukte erfolgte anhand der charakteristischen Remissionsspektren, die direkt von der DC-Platte bzw. nach Transfer (siehe Experimenteller Teil S. 91) aufgenommen wurden. Als Vergleich diente wiederum eine authentische Eudalinprobe (siehe Tabelle 5, S. 47).

T a b e l l e 5

Verbindung aus	$^1A \rightarrow L_b$ Übergang	$^1A \rightarrow L_a$ Übergang	$^1A \rightarrow ^1B_b$ Überg.
Malkangunin	320(320-310) Sch.	280	225
Celapanin	(325-315)Schulter	282 - 280	225
Eudalin	320(320-310) Sch.	280	225 - 224

Die geringen Abweichungen im 1L_b Übergang lassen sich durch die Bildung eines Naphtalingemisches deuten. Bei den hohen Reaktionstemperaturen von 350-400°C finden, wie auch in der Literatur beschrieben, Umlagerungen und oder auch schon Eliminierungen von Alkylgruppen am Naphtalinkörper statt, so daß sich ein Gemisch verschiedener substituierter Naphtaline bilden kann. Diese Umlagerungen konnten bei Reaktionstemperaturen von 450°C nachgewiesen werden. Bei einer Reaktionstemperatur von 350°C ist das Hauptreaktionsprodukt von Celapanin (A_2) das Eudalin.

2.312 Struktur von Celapanin (A_2)

Durch dieses Dehydrierungsexperiment scheint die Zugehörigkeit von Celapanin zum Eudesmantyp gesichert. Da auf Grund der Spektren vier Estergruppen vorhanden sind und eine Sauerstofffunktion der Furancarbonsäure angehört, muß auf Grund der Summenformel der restliche Sauerstoff ätherartig ins Molekül eingebaut sein, wodurch man zwangsläufig wie bei Malkangunin zu einem Grundalkohol vom β -Dihydroagaro-furantyp kommt. Da in A_2 Signale bei $\delta = 4.34$ und $\delta = 3.66$ ppm fehlen und keine mit D_2O austauschbaren OH-Gruppen erscheinen, dürfte anstelle der $-C(10)-CH_2-OH$ in Malkangunin, eine anguläre Methylgruppe ($\delta = 1.42$ ppm) vorhanden sein. Aus dem NMR-Spektrum geht eindeutig das Vorliegen eines Nicotinoyl-, eines Furanoyl- und eines Acetylrestes hervor. Die Teilstruktur $-CH-CHOAc-CHOAc-$ lt.NMR-Spektrum, zeigt

die Nachbarschaft von zwei Estern an. Da die chemische Verschiebung aller im Molekül vorhandenen CH-O-Gruppierungen auf ihre Veresterung hindeuten und freie Hydroxyle fehlen, kommen unter Zugrundelegung einer β -Dihydroagarfurangrundstruktur des Sesquiterpentetrols, als Veresterungsstellen nur die C-Atome 1,6,8 und 9 in Frage. Damit ergibt sich für Celapanin ein Sesquiterpentetrol, das sich in seinem Hydroxylierungsmuster vom Malkanguniol dadurch unterscheidet, daß anstelle einer OH-Gruppe am C(15), ein Hydroxyl am C(6) vorhanden ist. Wir nennen diesen, bisher nicht beschriebenen Sesquiterpenalkohol Celapanol (siehe auch Seite 70).

Da KUPCHAN und Mitarb. (41) bei der Strukturaufklärung von zwei Nicotinoylsesquiterpenalkaloiden Maytin und Maytolin im NMR-Spektrum über eine durch den Anisotropie-Effekt (eines in Nachbarschaft liegenden Nicotinoyls) sehr stark nach hohem Feld verschobene Acetylgruppe im Bereich von $\delta = 1.7 - 1.5$ ppm berichten, ist es plausibel, das bei $\delta = 1.68$ ppm im NMR-Spektrum von Celapanin auftretende Resonanzsignal (3 Prot.) ebenfalls einem Essigsäureester zuzuschreiben. In Analogie zu Maytin und Maytolin dürfte das C(1)-OH mit einem Acetyl- und das C(9)-OH mit dem Nicotinoylrest verestert sein. Für den Furanoyl- bzw. den zweiten Acetylanteil kommen laut NMR-Spektrum nur die Positionen am C(6) und C(8) in Frage. Da in der im nachfolgenden abgeleiteten Struktur des Celapagins, das einen Monoacetyl-benzoyl-nicotinoyl-ester des Celapanols darstellt, die Position am C(8) mit einem freien Hydroxyl besetzt ist, und gleichzeitig in A_3 nur eine Acetylgruppe vorhanden ist, darf angenommen werden, daß im Diacetylderivat Celapanin die zweite Acetylgruppe am C(8) sitzt. Somit bleibt für den Furanoylrest die Position am C(6). Daraus ergibt sich für Celapanin nachfolgende Struktur (siehe Abb. 21, S.49).

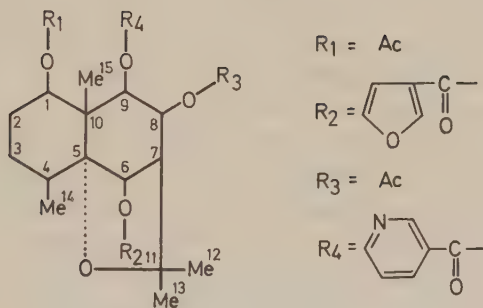


Abb. 21

Struktur von Celapanin

2.313 Zur Stereochemie von Celapanin

Wegen des gleichen Terpengrundkörpers und der gleichen NMR-Kopplungsgrößen von Celapanin und Malkangunin treffen für die erstgenannte Verbindung auch die gleichen stereochemischen Überlegungen zu. Danach stehen die Protonen am C(8) und C(9) axial/axial, da ihre Kopplungskonstante $J_{8,9} = 7 \text{ Hz}$ beträgt (siehe Ableitung bei Malkangunin S.39). Der Diederwinkel zwischen diesen beiden Wasserstoffen beträgt in Übereinstimmung mit dem Dreidingmodell 30° . Auf Grund einer Kopplung von $J_{7,8} = 3 \text{ Hz}$ und einem Diederwinkel von 55° ergibt sich bei axialer Stellung des H-8 eine äquatoriale Lage des H-7. Daraus folgt, wie auch bei Malkangunin, aus stereochemischen Gründen wiederum eine ax/ax Annelierung des Furanringes C des Grundgerüsts an den Cyclohexanring B, der seinerseits wiederum mit dem zweiten Cyclohexanring trans-verknüpft ist.

Von den bisher isolierten und strukturell aufgeklärten Celastraceen-Alkaloiden sind nur Maytin, Maytolin (41) und Evonin bzw. Neo-Evonin (55) durch Röntgenstrukturanalyse in ihrer Stereochemie eindeutig festgelegt worden. In diesen, ebenfalls zum β -Dihydroagarofurantyp gehörenden Esteralkaloiden sind die beiden Cyclohexanringe in Sesselform ebenfalls trans-verknüpft.

Auf Grund der vorangegangenen Betrachtungen steht am C(8) der Essigsäureester und am C(9) der Nicotinsäureester in beiden Fällen äquatorial. Die Kopplungskonstanten von C(1)-H ($J = 10/5$ Hz) weisen auf eine axiale Lage des Protons hin. Gleichzeitig spricht eine daraus folgende äquatoriale Lage der Acetylgruppe an C(1) für diese Konformation, da sie nur in dieser Position in den Ringstromeffekt des Nicotinsäureesters an C(9) eq gelangen kann und damit anisotrop nach hohem Feld ($\delta = 1.68$ ppm) verschoben wird. Das Fehlen einer sichtbaren Kopplung zwischen den Protonen am C(6) und C(7) fordert eine ax/eq Stellung der Wasserstoffatome. Da der H-7 äquatoriale Position einnimmt, steht der Wasserstoff am C(6) axial, womit sich eine äquatoriale Lage des Furanoylrestes an C(6) ergibt.

Es darf daher eine stereochemische Struktur angenommen werden, wie sie in Abb. 29, S.68, dargestellt ist.

T a b e l l e 6

NMR-Spektraldaten von Celapanin (A_2) (δ in ppm, $CDCl_3$, 100 MHz)

	δ	J (Hz)	Protonen
C(1) -H	5.49	dd $J_{ax/ax} = 10$ $J_{ax/eq} = 5$	1
C(2)-2H	im Bereich	m	
C(3)-2H	1.4 - 2.2	m	5
C(4) -H	2.25 *	m	
C(6) -H	5.40	$J \ll 1$	1
C(7) -H	2.60 *	d $J_{7,8} = 3$	1
C(8) -H	5.73 *	dd $J_{7,8} = 3$ $J_{8,9} = 7$	1
C(9) -H	5.4 *	d $J_{8,9} = 7$	1
C(12)-3H	1.59	s	3
C(13)-3H	1.42	s	3
C(14)-3H	1.01	d $J_{4,14} = 7$	3
C(15)-3H	1.42	s	3
Acetylreste:			
CH_3COO^-	2.12	s	3
	1.68 +	s	3
3-substituierter Nicotinoylrest:			
C(2) -H'	9.14 *		
C(4) -H'	8.26 *		
C(5) -H'	7.39 *		
C(6) -H'	8.76 *		
β -Furanoylrest:			
C(2) -H"	7.67 *	$J_{2'',4''} = \text{sehr klein}$	
C(4) -H"	6.44 *		
C(5) -H"	7.30 *	$J_{4'',5''} = 2$	

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

+ Verschiebung nach höherem Feld bedingt durch den Anisotropie-Effekt des Nicotinsäureringes.

2.32 Strukturaufklärung von Substanz A₁ (Celapanigin)

Nach dem hochauflösenden Massenspektrum besitzt die Substanz A₁ ein Molekulargewicht von 579,246 und eine Summenformel von C₃₂H₃₇O₉N. Wegen der geringen Substanzmenge (3 mg) konnte die optische Drehung nicht bestimmt werden.

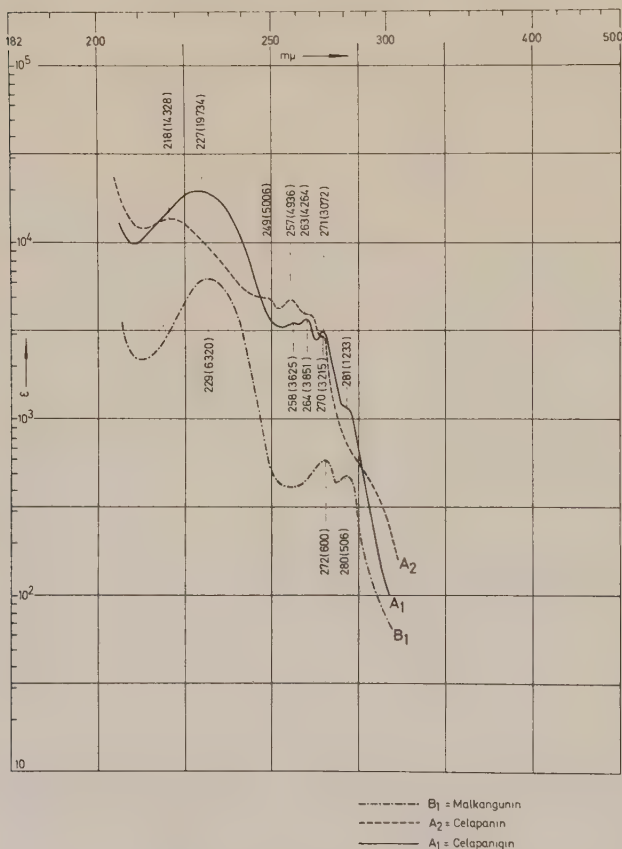


Abb. 22

UV-Spektren von Malkangunin, Celpanin und Celapanigin in EtOH

Das UV-Spektrum (siehe Abb. 22, S. 52) von A_1 weist auf Grund seiner Maxima bei λ 227 ($\epsilon = 19\,734$), 270 ($\epsilon = 3\,215$) und 281 nm ($\epsilon = 1\,233$) auf ein Benzoessäurederivat hin. Zusätzliche Intensitäten bei 258 ($\epsilon = 3\,625$), 264 ($\epsilon = 3\,851$) und 270 ($\epsilon = 3\,215$) nm lassen auf einen Nicotinsäureanteil (52) schließen. Bei 227 und 270 nm überlagern sich die Maxima der beiden Aromaten, womit sich die erhöhten ϵ -Werte erklären lassen.

Vergleicht man die UV-Spektren von Malkangunin und Celapanin mit dem von Substanz A_1 , so kann man anhand der Feinstruktur und auf Grund der beobachteten Überlagerungen erkennen, daß zusätzlich zu einem Benzoessäurerest (siehe UV-Spektrum von Malkangunin) noch der Anteil einer Nicotinsäure (siehe UV-Spektrum von Celapanin) vorhanden ist.

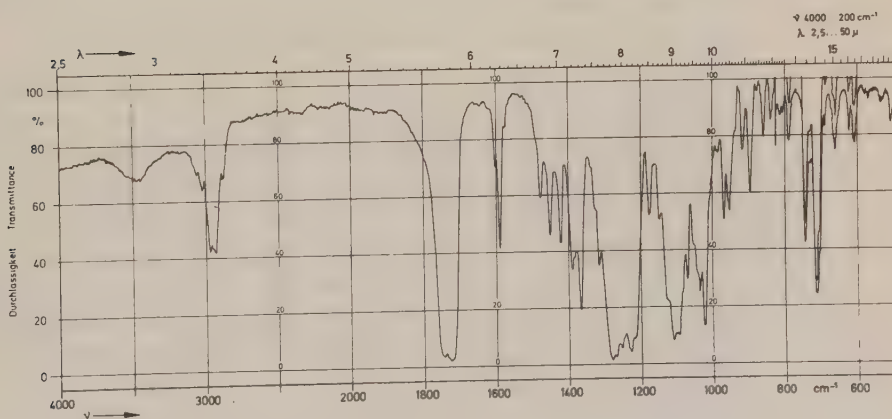


Abb. 23

IR-Spektrum von Celapanigin (A_1) (KBr)

Im IR-Spektrum (s. Abb. 23, S. 53) traten neben den C-H-Valenzschwingungen von gesättigten CH-Gruppen im Bereich $2\ 960 - 2\ 930\text{ cm}^{-1}$ die Schwingungsbanden von Aryl- ($1\ 725\text{ cm}^{-1}$) und gesättigten Estern ($1\ 750\text{ cm}^{-1}$) deutlich hervor. Die zugehörigen C-O-Valenzschwingungen liegen zwischen $1\ 280$ und $1\ 225\text{ cm}^{-1}$.

Wie bei Celapanin geben zwei wiederum nicht ganz symmetrische Schwingungen bei $1\ 390$ und $1\ 370\text{ cm}^{-1}$ einen Hinweis auf eine Isopropylgruppierung. Freie Hydroxylgruppen scheinen zu fehlen. Die schwache Bande bei $3\ 500\text{ cm}^{-1}$ im Spektrum stammt von nicht ganz auf der Lösung entfernten Äthanol, aus dem die Substanz kristallisiert wurde. Die Anwesenheit von Aromaten wird durch die Bande bei $1\ 590\text{ cm}^{-1}$ und Schwingungen zwischen $1\ 110 - 950\text{ cm}^{-1}$ angezeigt. Wie bei Malkangunin läßt die starke C-H out-of-plane Schwingung bei 715 cm^{-1} einen monosubstituierten Benzolring vermuten. Den Hinweis auf ein Pyridinderivat geben, wie bei Celapanin, die Bandenfolge $2\ 960$, 1590 , $1\ 480$, 1025 und 745 cm^{-1} (54).

Das Massenspektrum von A_1 (s. Abb. 18, S. 42) bestätigt durch den Verlust der Masseneinheiten $60(\text{CH}_3\text{COOH})$ bzw. 43 , 106 ($\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}$), $105(\text{C}_7\text{H}_5\text{O})$ und das Auftreten von intensiven Ionenpeaks bei $m/e\ 106$, $m/e\ 78$ und $m/e\ 105$, $m/e\ 77$ und $m/e\ 43$ die Anwesenheit von einem Nicotinsäure-, einem Benzoesäure- und möglicherweise zwei Essigsäureresten.

Wie beim Celapanin werden vom Molekül-Ion 15 Masseneinheiten abgespalten, erkennbar an dem Auftreten eines metastabilen Peaks. Dies läßt auf eine gleichfalls vorhandene anguläre Methylgruppe schließen.

Nach Abspaltung der Ester, d.h. ab $m/e\ 250$, weist das Massenspektrum von A_1 eine nahezu identische Fragmentierungsfolge wie beim Celapanin auf, womit das Vorliegen eines gleichen Grundalkohols wahrscheinlich ist.

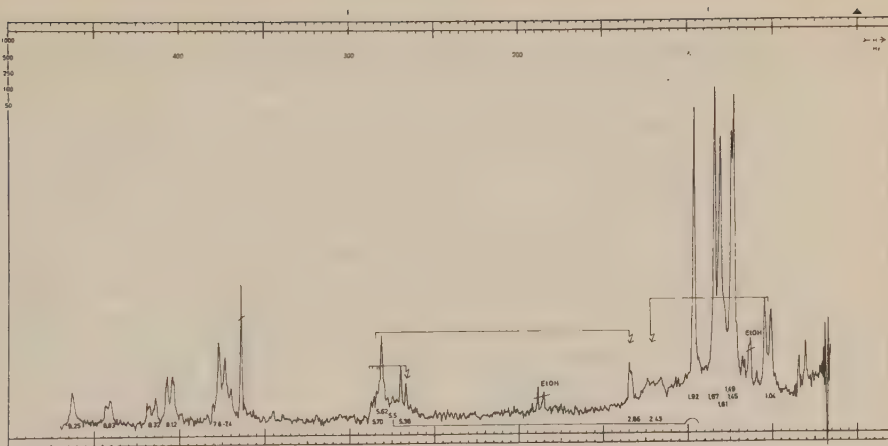


Abb. 24

NMR-Spektrum von Celapanigin (A_1) (CHCl_3 , 100 MHz)

Das NMR-Spektrum von A_1 (siehe auch Tabelle, S. 57) zeigt wie das von Celapanin wiederum die Anwesenheit von sechs Methylgruppen an. Eine davon kann auf Grund ihrer chemischen Verschiebung ($\delta = 1.04$ ppm), Hyperfeinstruktur (d, $J = 7$ Hz) und nach Entkopplungs-Experimenten in Analogie zum Celapanin und Malkangunin wiederum dem C(4) zugeordnet werden. Die Methylsignale bei $\delta = 1.61$ (s) und $\delta = 1.45$ ppm(s) sind nahezu in identischer Position wie die der Isopropylgruppierung in Celapanin. Auch hier ist eines der Signale, vermutlich durch den Anisotropie-Effekt der Veresterung am C(6) nach niedrigem Feld ($\delta = 1.45$ ppm) verschoben. Eine anguläre Methylgruppe bei $\delta = 1.49$ ppm dürfte an derselben Position (C(10)) stehen wie im Celapanin. Die CH_3 -Gruppe eines Acetylrestes zeigt bei $\delta = 1.92$ ppm dieselbe Lage und Hyperfeinstruktur(s) wie im Malkangunin, so daß auf eine Acetylgruppe am C(8)-OH geschlossen

werden kann. Eine zweite Methylgruppe erscheint als Singulett bei $\delta = 1.67$ ppm. Sie kann, aus den bei Celapanin aufgeführten Grund wiederum einer anisotrop nach höherem Feld verschobenen Acetylfunktion zugeordnet werden (vergleiche Tab. 4, S. 45). Durch Doppelresonanz-Experimente mit einem Dublett bei $\delta = 2.66$ ppm ($J = 3$ Hz), einem Quadrublett bei $\delta = 5.70$ ppm ($J = 3/7$ Hz) und einem Dublett bei $\delta = 5.36$ ppm ($J = 7$ Hz) läßt sich eine Nachbarstellung der beteiligten Protonen ableiten. In Analogie zu den vorher beschriebenen Substanzen scheint daher die Teilstruktur $-\text{CH}-\text{CHOAc}-$ wiederum sehr wahrscheinlich. Die chemische Verschiebung zweier Multiplette bei $\delta = 5.5$ und $\delta = 5.62$ ppm weist ebenso wie im Celapanin auf zwei zusätzliche Veresterungsstellen hin. Bei $\delta = 9.25$, 8.32 , 7.4 und 8.83 ppm erscheinen in Übereinstimmung mit den entsprechenden Signalen im Spektrum von Celapanin die Signale eines 3-substituierten Nicotinoylrestes. Die bei $\delta = 8.2$ ppm und $\delta = 7.6 - 7.4$ ppm auftretenden Signale lassen sich einem Benzoesäureester zuordnen (siehe Malkangunin). Eine Zuordnung der NMR-Daten wird in Tabelle 7, S. 57, wiedergegeben.

T a b e l l e 7

NMR-Spektraldaten von Celpanigin (A_1) (δ in ppm, ($CDCl_3$), 100 MHz)

	δ	J(Hz)	Protonen
C(1) -H	5.5 *	m	1
C(2) -H	im Bereich		
C(3) -H	1.3 - 2.2	m	5
C(4) -H	2.43 *	m	
C(6) -H	5.62 *	m $J \ll 1$	1
C(7) -H	2.66 *	d $J_{7,8} = 3$	1
C(8) -H	5.70 *	dd $J_{7,8} = 3$ $J_{8,9} = 7$	1
C(9) -H	5.36	d $J_{9,8} = 7$	1
C(12)-3H	1.61	s	3
C(13)-3H	1.45	s	3
C(14)-3H	1.04 *	d $J_{4,14} = 7$	3
C(15)-3H	1.49	s	3
Acetylreste:			
CH_3COO^-	1.92	s	3
	1.67 +	s	3
3-subst.Nicotinoylreste:			
C(5')-H'	7.4		1
C(4')-H'	8.32		1
C(6')-H'	8.83		1
C(2')-H'	9.25		1
Benzoylreste:			
C(2'')-H und C(6'')-H	8.12	$J_{ortho} = 7$ $J_{meta} = 2$	2
C(3'')-H, C(4'')-H, C(5'')-H	7.6 - 7.4		3

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

+ Verschiebung nach höherem Feld, bedingt durch Anisotropie-Effekt des Nicotinsäurerings.

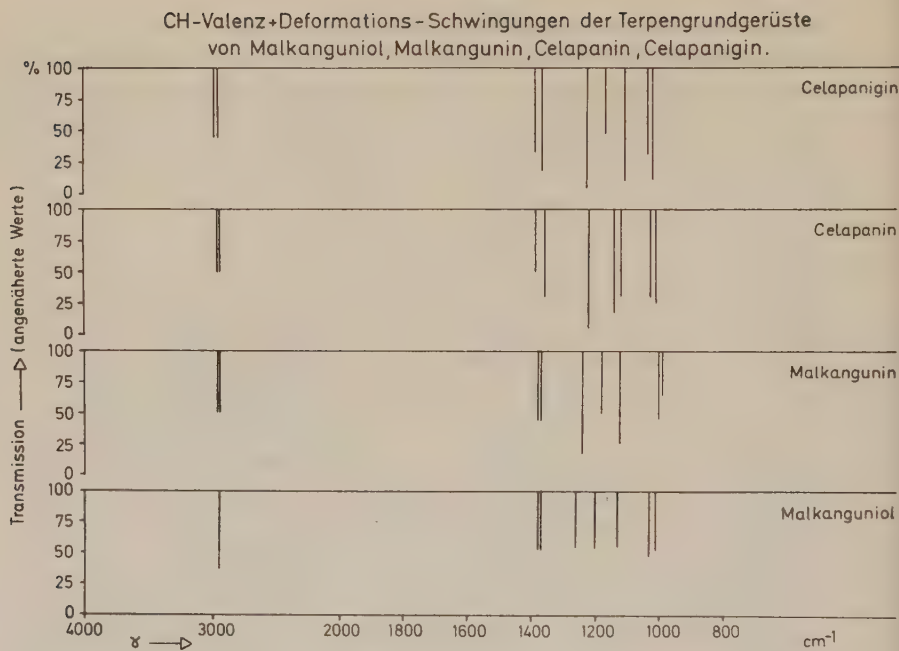


Abb. 25

2.331 Struktur von Celapanigin (Substanz A₁)

Nach den aus der Spektroskopie erhaltenen Informationen liegt im Celapanin ein Tetra-ester vor, der sich aus einem Benzoessäure-, einem Nicotinsäure- und zwei Essigsäure-Res-ten zusammensetzt. In Abb. 25 sind die IR-CH-Valenz- und Deformationsschwingungen von Celapanigin mit denen der anderen isolierten Substanzen verglichen. Aus dem Auftreten von nahezu identischen Bandenmustern geht hervor, daß alle untersuchten Verbindungen einschließlich Celapanigin das gleiche Grundgerüst haben. Auch das Massenspektrum von Celapanin weist wie die anderen Terpenoide eine nahezu identische Fragmentierungsfolge für den Grundalkohol (Zer-fälle ab m/e 250) auf. Durch NMR-Entkopplungsexperimente

konnte, wie auch bei allen vorher beschriebenen Substanzen, wiederum die Teilstruktur $-\text{CH}-\text{CHOAc}-\text{CHOAc}-$ und damit die Nachbarstellung von zwei Estern abgeleitet werden. Die nahezu identische chemische Verschiebung und Hyperfeinstruktur der CH_3 -Signale verglichen mit denen von Malkangunin und Celapanin (siehe Tab. 4, S. 45) zeigen die gleiche chemische Umgebung der beteiligten Protonen an. Das NMR-Signalmuster von Celapanigin besitzt große Ähnlichkeit mit dem von Celapanin. Abweichend davon sind die aromatischen Protonen des Nicotinoylrestes etwas nach tieferem Feld und eine Methylresonanz einer der beiden Acetylreste (1.92 ppm), vermutlich wegen der Ringstrom-Effekte der aromatischen Ester, nach höherem Feld verschoben. Legt man für A_1 die Summenformel $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_9\text{N}$ zugrunde, so erhält man nach Abzug der Ester und von freien Hydroxylgruppen, wiederum ein tricyclisches System mit 15 C-Atomen und einer Sauerstoff-Funktion im Molekül. Gleichfalls wahrscheinlich ist neben der Anwesenheit der erwähnten Teilstruktur, das Vorkommen einer angular stehenden quartären CH_3 -Gruppe, einer tertiären CH_3 - und einer Isopropylgruppierung im Molekül. A_1 unterscheidet sich demnach von Celapanin nur durch den Ersatz eines Furanoylrestes durch einen Benzoylrest. A_1 weist im NMR-Spektrum in gleicher Weise wie Celapanin eine nach hohem Feld ($\delta = 1.67$ ppm) verschobene Acetylgruppe auf. Es ist anzunehmen, daß sie wiederum am C(1) gebunden ist, denn nur so kann sie in den Ringstromeffekt des am C(9) fixierten Aromaten kommen. Welcher der beiden im Molekül vorhandenen Aromaten (Nicotin- oder Benzoessäure) mit C(9)-OH verestert ist, kann nicht mit Sicherheit geklärt werden. Jedoch scheint es auf Grund von Analogieschlüssen mit Maytin bzw. Maytolin (41) wahrscheinlich, daß die C(9)-Stellung mit der Nicotinsäure besetzt ist. Da im NMR-Spektrum von A_1 das Proton am C(8) nahezu dieselbe Lage wie im Celapanin aufweist, ist anzunehmen, daß das C(8)-OH mit einer Essigsäure verestert ist. Diese Annahme ist auch aus chemotaxonomischer Sicht sinnvoll, da die im nachfolgenden

beschriebene, aus der gleichen Pflanze isolierte Substanz A_3 , das 8-Deacetylderivat von A_1 darstellt. Für die Benzoesäure bleibt somit die Veresterungsstelle am C(6). Daraus leitet sich eine Struktur ab, wie sie in Abb. 26 dargestellt ist. Die Stellung der Ester ist in der stereochemischen Formel (s. Abb. 29, S. 68) berücksichtigt.

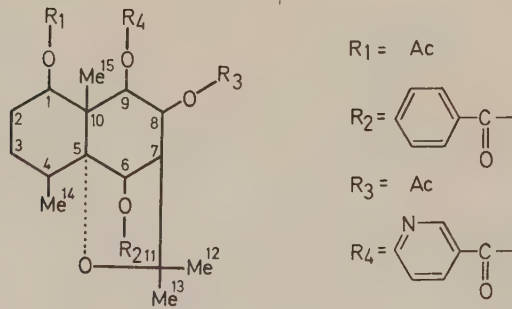


Abb. 26

Struktur von Celapanigin (A_1)

2.322 Zur Stereochemie von Celapanigin (A_1)

Da A_1 dieselben Kopplungskonstanten zwischen den Protonen an C(9) ($J_{9,8} = 7$ Hz), C(8) ($J_{7,8} = 3$ Hz, $J_{8,9} = 7$ Hz) und C(7) ($J_{7,8} = 3$ Hz) aufweist wie die bereits strukturell geklärten Verbindungen und die Diederwinkel der dazugehörigen Wasserstoffatome wiederum 30° bzw. 55° betragen, liegt der Schluß nahe, daß in Analogie zu Malkangunin und Celapanin die Protonen an C(9) und C(8) axial stehen, während H-7 äquatoriale Lage hat. Somit ergibt sich nach den schon früher getroffenen Feststellungen auch für Celapanigin bei axialer Annelierung des Furanringes C (des Grundgerüsts) an den Cyclohexanring B eine trans-Verknüpfung der beiden Cyclohexanringe untereinander. Daraus folgt für den Nicotinoylanteil am C(9) und für den Acetylrest am C(8) eine äquatoriale Position. Für die Stellung der Acetylgruppe am C(1) scheint eine äquatoriale Lage wahrscheinlich, denn nur so kann sie in den Ringstromeffekt des am C(9) axialen Aromaten gelangen (siehe 2.312). Für die Stellung des Esters am C(6) ergibt sich auf Grund einer fehlenden sichtbaren Kopplung zwischen den Protonen am C(6) und C(7) (ax/eq) wiederum wie bei Celapanin eine äquatoriale Lage. Für Celapanigin kann deshalb eine Konformation vorgeschlagen werden, wie sie in Abb. 29, S.68, dargestellt ist.

2.33 Strukturaufklärung von Substanz A_3 (Celapagin)

Mit Hilfe eines hochauflösenden Massenspektrums konnte für die Substanz A_3 bei einem Molekulargewicht von 537.231 die Summenformel $C_{30}H_{35}O_8N$ ermittelt werden.

Im Massen-Spektrum (Abb. 18, S. 42) weisen die Abspaltung der Masseneinheiten 106, 122 und 60 aus dem Molekül ($537 M^+$) und das Auftreten der intensiven Ionenpeaks bei m/e 106, m/e 78 auf die Anwesenheit eines Nicotinoyl-, die Peaks m/e 105 und sein Folgeionen m/e 77, m/e 49 auf einen Benzoyl- und m/e 43 auf einen Acetylanteil im Molekül hin. Diese Fragmentierung und die Abspaltung von M-15 sind ähnlich wie im Celapanigin.

Die Hauptzerfälle m/e 251, m/e 245, m/e 217, m/e 175, m/e 157 und m/e 124 sind mit denen von Celapanin und Celapanigin nahezu identisch und lassen daher das Vorliegen des gleichen Grundalkohols vermuten.

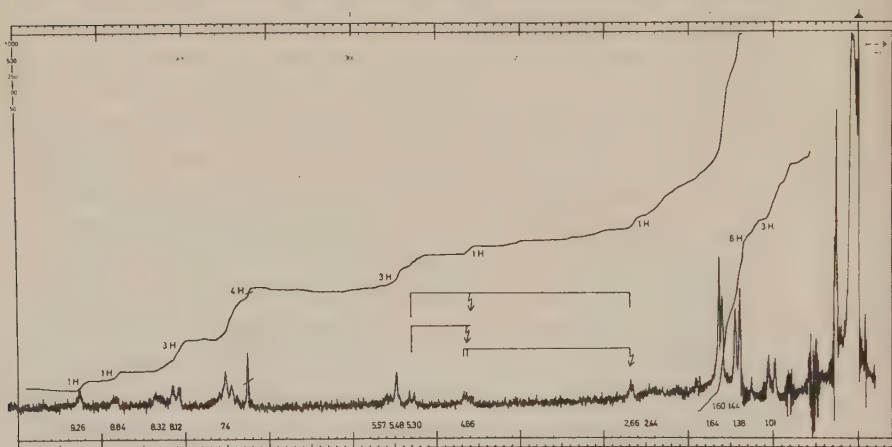


Abb. 27

NMR-Spektrum von Celapagin (A_3) ($CDCl_3$, 100 MHz)

Das abgebildete NMR-Spektrum (Abb. 27), das nach Deuteriumaustausch aufgenommen wurde, zeigt nahezu eine identische Hyperfeinstruktur und gleiche chemische Verschiebungen wie das von Celapanigin. Die Protonen des Benzoesäure- und Nicotinsäureesters erscheinen in gleicher Lage, Hyperfeinstruktur, und mit den gleichen Kopplungsgrößen. Sie integrieren für dieselbe Anzahl von Wasserstoffen wie im Celapanigin. (Siehe zusammenfassende Aufstellung der NMR-Daten aller isolierten Substanzen Tabelle 9, S. 71).

Eine tertiäre Methylgruppe ($\delta = 1.01$ ppm, d, $J = 8$ Hz) und zwei für je drei Protonen integrierbare Singulette bei $\delta = 1.60$ bzw. 1.44 ppm sind in nahezu identischer Position

wie in A_1 und können deshalb mit großer Wahrscheinlichkeit der CH_3 -Gruppe am C(14) und der Isopropylgruppierung am C(11) zugeordnet werden.

Im Gegensatz zu Celapanigin treten im Spektrum von A_3 die Signale von insgesamt nur 5 Methylgruppen auf. Es fehlt die, in den anderen isolierten Substanzen vorhandene, bei ca. $\delta = 2.0$ ppm auftretende, Acetoxygruppe.

Für das Singulett bei $\delta = 1.64$ ppm kann in Analogie zu Celapanin und Celapanigin wiederum eine durch Anisotropie-Effekt stark nach hohem Feld verschobene Acetylgruppe angenommen werden.

Als weiterer Unterschied zu den oben erwähnten Substanzen erscheint bei $\delta = 4.66$ ppm ein Quadruplett ($J = 3/7$ Hz). Diese chemische Verschiebung läßt das Wegfallen einer Veresterungsstelle und gleichzeitig das Auftreten einer freien alkoholischen Gruppe vermuten. Durch Entkopplungsexperimente mit einem Dublett bei $\delta = 5.30$ ppm ($J = 7$ Hz), dem erwähnten Quadruplett und einem weiteren Dublett bei $\delta = 2.66$ ppm ($J = 3$ Hz) konnte die Protonensequenz $-HC-HCOH-HCOAc$ nachgewiesen werden. Diese Teilstruktur darf auf Grund gleicher Kopplung und Hyperfeinstruktur mit einiger Sicherheit anstelle der $HC(7)-HC(8)OAc-HC(9)OAc$ -Folge in Celapanin und Celapanigin angenommen werden.

Die Multiplette bei $\delta = 5.57$ ppm bzw. $\delta = 2.44$ ppm und das Signal bei $\delta = 5.48$ ppm können, da sie dieselbe Aufspaltung zeigen, in Analogie zu Celapanigin den Protonen am C(1) bzw. am C(4) und am C(6) zugeordnet werden.

Eine vollständige Zuordnung aller im Spektrum von Celapagin auftretenden Resonanzen wird in Tabelle 8, S. 64, gegeben.

T a b e l l e 8

NMR-Spektraldaten von Celapagin (A_3) (δ in ppm, 100 MHz, $CDCl_3$ nach D_2O -Austausch)

	δ		J(Hz)	Protonen
C(1) -H	5.57	m		1
C(2) -H	im Bereich			
C(3) -H	1.3 - 2.2	m		5
C(4) -H	2.44	m		
C(6) -H	5.48	m	$J \ll 1$	1
C(7) -H	2.66 *	d	$J_{7,8} = 3$	1
C(8) -H	4.66 * ++	dd	$J_{7,8} = 3$ $J_{8,9} = 7$ $J_{9,8} = 7$	1
C(9) -H	5.30 *	d		1
C(12)-3H	1.60	s		3
C(13)-3H	1.44	s		3
C(14)-3H	1.01	d	$J_{4,14} = 7$	3
C(15)-3H	1.38	s		3
Acetylreste:				
CH_3COO^-	1.64 +			3
3-subst.Nicotinoylreste:				
C(5')-H	7.4			1
C(4')-H	8.32			1
C(6')-H	8.84			1
C(2')-H	9.26			1
Benzoylreste:				
C(2'')-H und C(6'')-H	8.12		$J_{ortho} = 7$ $J_{meta} = 2$	2
C(3'')-H, C(4'')-H C(5'')-H	7.6 - 7.4			3

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

+ Verschiebung nach höherem Feld, bedingt durch den Anisotropieeffekt des Nicotinsäureringes.

++ Die Lage wurde nach Deuteriumaustausch bestimmt.

2.331 Struktur von Celapagin (A_3)

Aus der Summenformel von Celapagin $C_{30}H_{35}O_8N$ läßt sich das Vorhandensein von 14 Doppelbindungsäquivalenten ableiten, d.h. die Verbindung enthält ein Doppelbindungsäquivalent weniger als Celapanigin.

Aus dem Massenspektrum und vor allem aus dem NMR-Spektrum geht hervor, daß in A_3 nur eine Acetylgruppe vorliegt. Subtrahiert man diese von der Summenformel von Celapanigin $C_{32}H_{37}O_9N$, so ergibt sich unter Berücksichtigung einer nun frei vorliegenden alkoholischen Gruppe die Formel von Celapagin.

Nach Abzug eines Benzoessäure-, Nicotinsäure- und eines Essigsäureesters erhält man wiederum den gleichen Sesquiterpentetrol-Grundkörper, wie er im Celapanin und Celapanigin vorliegt. Dies wird auch durch die nahezu identische Fragmentierungsfolge im Massenspektrum unterhalb m/e 250 deutlich.

Einen weiteren Hinweis für das Vorliegen des gleichen Grundalkohols ergibt der Vergleich der chemischen Verschiebung der Methylgruppen der isolierten Substanzen, wie die Tab.4, S.45, zeigt. Da die entsprechenden Signale mit gleicher Hyperfeinstruktur bei nahezu denselben ppm-Werten auftreten, ist auch ihre gleiche chemische Nachbarschaft sehr wahrscheinlich.

Die durch Entkopplungsexperimente nachgewiesene Verschiebung des Protons am C(8) von $\delta = 5.73$ ppm im Celapanin und von $\delta = 5.70$ ppm im Celapanigin nach $\delta = 4.66$ ppm im Celapagin, lassen den Schluß zu, daß die freie Hydroxylgruppe am C(8) sitzt. Die C(9)-OH des Grundkörpers dürfte auf Grund derselben chemischen Verschiebung wie in Celapanigin mit Nicotinsäure und das C(1)-OH mit Essigsäure verestert sein. Durch den Einfluß dieses Aromaten wird die Acetylgruppe wiederum diamagnetisch stark nach hohem Feld (1.64 ppm) verschoben. Das Signal bei $\delta = 5.48$ ppm kann auf Grund seiner charakteristischen Hyperfeinstruktur ($J \ll 1$), wie beim Celapanigin, dem HC(6)OAc zugeordnet

werden, wobei als Acylrest wiederum der Benzoesäureester angenommen werden kann. Die Verschiebung des Protons am C(6) von $\delta = 5.62$ ppm in Celapanigin nach $\delta = 5.48$ ppm im Celapagin kann durch das Fehlen des induktiven Effektes der in Celapanigin vorhandenen Esterfunktion am C(8) erklärt werden. Es darf deshalb mit einiger Sicherheit angenommen werden, daß Celapagin (A_3) das 8-De-acetylderivat von Celapanigin darstellt (Struktur siehe Abb. 28).

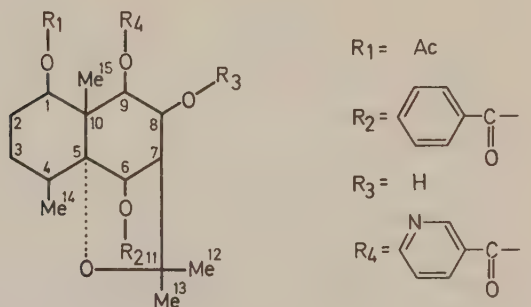


Abb. 28

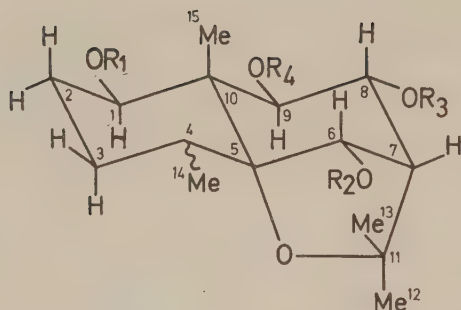
Struktur von Celapagin (A_3)

2.332 Zur Stereochemie von Celapagin (A₃)

Da nach den vorausgegangenen Erläuterungen angenommen werden darf, daß Celapagin das 8-De-acetylderivat von Celapanigin darstellt, scheint auch eine stereochemische Identität des Grundkörpers wahrscheinlich.

Die Kopplung $J_{8,9} = 7$ Hz läßt nach LEMIEUX (50,51) auf eine ax/ax Stellung der beteiligten Protonen schließen, d.h. die Lage des Wasserstoffs an C(8) und C(9) ist beide Male axial. Bei axialer Stellung des H-8 und einer Kopplung von $J_{7,8} = 3$ Hz folgt analog den vorher beschriebenen Substanzen für H-7 eine äquatoriale Position.

Aus stereochemischen Gründen ist der Furanring des Grundgerüsts mit dem Cyclohexanring wiederum durch zwei axiale Bindungen verknüpft und somit ergibt sich für die beiden Cyclohexanringe wiederum eine trans-Annelierung. Wie in Celapanigin weist eine Kopplung von $J_{6,7} \ll 1$ Hz auf eine ax/eq Stellung der Protonen am C(6) und C(7) hin, so daß, bei äquatorialem H-7, der Benzoessäureester am C(6) äquatoriale Lage haben sollte. Für den Essigsäureester an C(8) und den Nicotinsäureester am C(9) leitet sich lt. vorausgegangenen Betrachtungen jeweils eine äquatoriale Position ab. Für den am C(1) gebundenen Acetylrest ergibt sich wiederum eine äquatoriale Stellung, denn nur in dieser Lage gelangt er in den Ringstromeinfluß des Nicotinsäureesters und wird diamagnetisch nach $\delta = 1.64$ ppm verschoben. Somit stellt Celapagin auch in stereochemischer Hinsicht das natürlich in *Celastrus paniculatus* vorkommende Deacetylderivat von Celapanigin dar. Seine Konformation kann deshalb wie in Abb. 29, S. 68, wiedergegeben werden.



Celapanin	Celapanigin	Celapagin (Deacetyl - Celapanigin)
$R_1 = R_3 = \text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O}) -$	$R_1 = R_3 = \text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O}) -$	$R_1 = \text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O}) -$
$R_2 =$	$R_2 =$	$R_2 =$
$R_4 =$	$R_4 =$	$R_3 = \text{H}$
		$R_4 =$

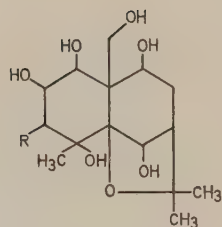
Abb. 29

Stereochemische Struktur von Celapanin (A_2), Celapanigin (A_1)
und Celapagin (A_3)

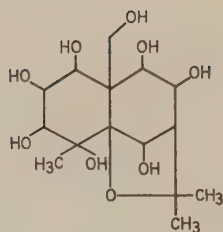
3.0 Zusammenfassung und Diskussion

Aus *Celastrus paniculatus* WILLD. wurden vier Sesquiterpenester isoliert. Die Strukturaufklärung erfolgte vorwiegend mit Hilfe von spektroskopischen Methoden. Malkangunin stellt den Benzoyl-Acetyl-Ester des Malkanguniol, einem 1,8,9,15-Tetrahydroxy- β -Dihydroagarofuran dar. Der Nachweis des Grundgerüsts und seine Zuordnung zu den Eudalinbildnern innerhalb der Sesquiterpenhydroaromaten wurde durch Dehydrierung und Vergleich der Remissionsspektren mit authentischem Eudalin geklärt. Celapanin, Celapanigin und Celapagin stellen die Ester eines mit Malkanguniol isomeren Sesquiterpentetrols, dem Celapanol, dar, der im Unterschied zu Malkanguniol in 1,6,8,9-Stellung hydroxyliert ist. Der Nachweis des terpenoiden Grundgerüsts wurde wie bei Malkangunin geführt. Die terpenoiden Grundalkohole (Maytol, Euonyminol) der aus anderen Celastraceen isolierten Sesquiterpenalkaloide (Maytin, Evonin, Wilfordin) (41,25,39) unterscheiden sich von den Grundalkoholen (Malkanguniol, Celapanol) unserer isolierten Substanzen durch die Anzahl der vorhandenen Hydroxylgruppen und das Hydroxylierungsmuster (siehe Abb. 30, S.70).

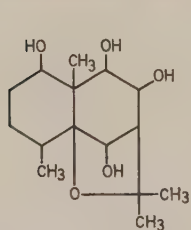
Die Acylreste wurden mit spektroskopischen Methoden nachgewiesen. Die Veresterungsstellen konnten mit Hilfe von Kernresonanz und Doppelresonanzexperimenten gefunden werden. Durch Vergleich der isolierten Stoffe untereinander und Analogien zu Maytin bzw. Maytolin (41) war es möglich, die Positionen der Veresterung anzugeben. Celapanin stellt somit den 1,8-Acetyl-6-furanoyl-9-nicotinoyl-ester des Celapanols dar. Celapanigin enthält am C(6) anstelle des β -Furancarbonsäureesters einen Benzoylrest. Celapagin ist das 8-Deacetyl-derivat von Celapanigin. Aus einer Zusammenstellung (siehe Tab. 9, S. 71) der Protonenzuordnung aller im NMR erscheinenden Resonanzsignale geht die Gemeinsamkeit der Grundgerüste sämtlicher isolierter Substanzen hervor. Ihre Stereochemie wurde aus den Kopplungen der entsprechenden Wasserstoffe unter Bezugnahme auf eine kernresonanzmagnetische Arbeit über die Konfiguration von Cyclohexandiolen nach LEMIEUX (50,51) abgeleitet.



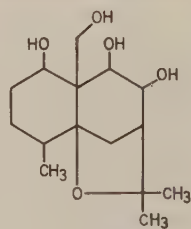
Maytol (R=OH)
(Desoxymaytol R=H)



Euonyminol
Isoeuonyminol



Celapanol
(Celapanin)
(Celapanigin)
(Celapagin)



Malkanguniol
(Malkangunin)

Abb. 30

Terpengrundalkohole in Celastraceen

NMR-Spektraldaten der isolierten Substanzen (δ in ppm, CHCl_3 , 100 MHz)

Grundalkohol:	H-1	H-2, H-3	H-4	H-6	H-7	H-8	H-9	3H-12	3H-13	3H-14	3H-15
Malkangunin	4.55* dd 9/5	1.4-2.2 m	1.75* m	1.4-2.2	1.75* dd 3/7	5.47* dd 3/7	6.22* d 7	1.58 s	1.21 s	1.01* d 7	4.34*, 3.66* d 12 d 12
Celapanin	5.49 dd 10/5	1.4-2.2 m	2.25* m	5.40* m	2.60* d 3	5.73* dd 3/7	5.4* d 7	1.59 s	1.42 s	1.01* d 7	1.42 s
Celapanigin	5.5* m	1.3-2.2 m	2.43* m	5.62* m	2.66* d 3	5.70* dd 3/7	5.36* d 7	1.61 s	1.45 s	1.04* d 7	1.49 s
Celapagin	5.57 m	1.3-2.2 m	2.44 m	5.48 m	2.66* d 3	4.66* dd 3/7	5.30* d 7	1.60 s	1.44 s	1.01 d 7	1.38 s
Benzoylrest:	H-2', H-6'	H-3', H-4', H-5'	Nicotinoylrest:								
Malkangunin	8.2 ortho	7/meta 2	7.6 - 7.4	Celapanin							
Celapanigin	8.2 ortho	7/meta 2	7.6 - 7.4	Celapanigin							
Celapagin	8.12 ortho	7/meta 2	7.6 - 7.4	Celapagin							
Acetylrest:	β -Furanoylrest:										
Malkangunin	1.92	-	Celapanin								
Celapanin	2.12	1.68 ⁺	J _{2'',4''} = sehr klein, J _{4'',5''} = 2								
Celapanigin	1.92	1.67 ⁺									
Celapagin	-	1.64 ⁺									

Die Kopplungsgrößen sind angenäherte Werte.

* Die Lage wurde durch Entkopplungsexperimente bestimmt.

+ Verschiebung nach höherem Feld, bedingt durch den Anisotropie-Effekt des Nicotinsäureringes.

++ Die Lage wurde nach Deuteriumaustausch bestimmt.

Das Ergebnis steht in Übereinstimmung mit der Konformation von Maytin und Evonin, die bei axialer Annelierung des Furanringes an einen der beiden Cyclohexanringe ebenfalls eine trans-Verknüpfung der beiden Cyclohexanringe untereinander aufweisen, und deren Stereochemie mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse festgelegt werden konnte (41,55).

Nach HEGNAUER (56) gehören die isolierten Basen zu den Pseudoalkaloiden: "Die Pseudoalkaloide sind Hybriden des pflanzlichen Stoffwechsels. Sie sind in vielen Fällen isoprenoide Verbindungen, die Alkaloideigenschaften erhalten haben, weil auf irgend einer Stufe ihrer Bildung Stickstoff ins Molekül eingebaut wird."

Diese Theorie scheint durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Durch Veresterung eines isoprenoiden Grundalkohols mit Benzoe- und Essigsäure bleibt der terpenoide Charakter gewahrt (Malkangunin). Erfolgt zusätzliche Veresterung mit der ubiquitär vorkommenden Nicotinsäure, so erhalten die Verbindungen Alkaloideigenschaften (Celapanin, Celapanigin, Celapagin).

EXPERIMENTELLER TEIL

4.0 Herkunft der Droge

Die Droge stammt von der Ostküste Indiens und wurde durch die Fa. Zandu, Pharmaceutical Work, limit., Bombay, in den Jahren 1970 - 1972 bezogen. Die verschiedenen Chargen unterschieden sich voneinander nur im Fett- und Alkaloidgehalt.

5.0 Allgemeine Arbeitsmethoden

5.1 Fällungsreagentien für Alkaloide

a) Valsers Reagens auf Alkaloidsalze (57)

10 g Kaliumjodid werden in 100 ml Wasser gelöst und unter Rühren zu ca. 15 g Quecksilber-II-jodid gegeben. Die Mischung wird solange gerührt, bis fast das ganze Quecksilber-jodid gelöst ist und dann filtriert.

Test: Zu etwa 1 - 2 ml der sauren, wässrigen alkaloidhaltigen Lösung werden 1 - 3 Tropfen Valsers Reagens gegeben. Die Reaktion ist dann positiv, wenn eine Trübung oder ein weißer Niederschlag auftritt.

b) Mayers Reagens (58)

1.358 g Quecksilber-II-chlorid werden in 60 ml Wasser gelöst und in eine Lösung aus 5 g Kaliumjodid in 10 ml Wasser gerührt. Die Lösung wird auf 100 ml mit Wasser verdünnt.

Test: Die Anwesenheit von alkaloidhaltigem Material wird dann vermutet, wenn 0.5 - 1 ml einer wässrigen, sauren Lösung mit 1 - 2 Tropfen Mayers Reagens einen Niederschlag ergeben.

5.2 Absteigende Papierchromatographie

Die papierchromatographischen Untersuchungen wurden auf Papier 2043 b Mgl der Fa. Schleicher u. Schüll, Dassel, durchgeführt.

Temp.: 20 - 24°C

Laufzeit: 6 Stdn.

5.21 Laufmittel zum Screening der Alkaloide

- a) Extrakt (siehe unter 7.11)
n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:2)
- b) saurer Chloroform-Extrakt
n-Butanol-5% Essigsäure (1:1 Oberphase)
- c) basischer Chloroform-Extrakt
n-Butanol-28% Ammoniak-Wasser (30:1:5)

5.22 Sprühmittel

essigsaurer Dragendorff (siehe 5.33 a))

5.3 Dünnschichtchromatographie

5.31 Adsorbens

- a) 14.0 Kieselgel H der Fa.Merck wurden mit 45.0 Wasser angerührt und auf 5 Glasplatten 10 x 20 cm ausgestrichen. Die Platten wurden 30 Min. bei 120°C aktiviert.
- b) Kieselgel 60 F₂₅₄ Fertigplatten der Fa.Merck
Schichtdicke 0.25 mm
- c) 40.0 Aluminiumoxyd D der Fa.Riedel-De Haen AG. wurden in 40 ml Wasser suspendiert und damit 5 Glasplatten 20 x 20 cm beschichtet.
Aktivierung: 30 Min. bei 120°C

5.32 Laufmittel

- a) Alkaloide
Chloroform-Aceton-Methanol-Triäthylamin (3:4:1:2)
(= Laufmittel A)
Benzol-Äthylacetat-Diäthylamin (7:2:1)
(= Laufmittel B)
Benzol-Äthylacetat-Triäthylamin (10:12:3)
Benzol-Äthylacetat (1:1)
(= Laufmittel C)
Chloroform-Methanol (100:5)
(= Laufmittel D)

b) Terpene

Benzol-Äthylacetat (1:1) (= Laufmittel C)

Chloroform-Methanol (100:2) (= Laufmittel E)

Chloroform-Methanol (10:2) (= Laufmittel F)

c) Hydrolysat (= B₁-Hy, Malkanguniol)

Benzol-Äthylacetat (1:10)

Chloroform-Methanol-Wasser (30:50:24)

Chloroform-Aceton (80:20)

Chloroform-Methanol (90:10)

d) Benzoessäure

Benzol-Dioxan-Eisessig (90:25:4)

e) Essigsäure

Äthanol-Ammoniak-Wasser (80:4:16)

f) Unverseifbarer Anteil

Äther-Benzol (2:1, mit 15% Essigsäure gesättigt)

Chloroform-Äthylacetat (80:20)

5.33 Sprühreagentien

a) Alkaloide

Dragendorffs Reagens nach MUNIER und MACHEBOEUFF (59)

Lsg. a) 0.85 g bas. Wismutnitrat werden in 10 ml Eisessig
und 40 ml Wasser gelöst

Lsg. b) 8 g KJ werden in 20 ml Wasser gelöst.

Vorratslösung: gleiche Volumina der Lsg. a) und b) werden
gemischt

Sprühlösung: 10 ml Vorratslösung und 20 ml Eisessig
werden mit 100 ml Wasser gemischt.

Nachbehandlung: nach Lufttrocknung der Platten werden
diese mit 2% Essigsäure besprüht.

Kaliumjodoplatinat (60)

5 ml Hexachloroplatin-IV-säurelösung (10%) werden mit
97 ml Wasser versetzt und 100 ml KJ-Lsg. (6% in H₂O) zu-
gegeben.

Hydroxylamin-Eisen-III-chlorid auf Carbonsäureester (61)

Lsg. a) 20 g Hydroxylamin HCl werden in 50 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Äthanol auf 200 ml aufgefüllt und kühl aufbewahrt.

Lsg. b) 50 g KOH werden in möglichst wenig H_2O gelöst und mit Äthanol auf 500 ml aufgefüllt.

Sprühlsg. I: 1 Vol a) wird mit 2 Vol b) gemischt.

Das ausgefallene KCl wird abfiltriert.

Sprühlsg. II: 10 g feinstgepulvertes $Fe-III-Cl$ ($FeCl_3 \cdot 6 H_2O$) werden in 20 ml HCl (36%) gelöst. Die Lösung wird solange mit 200 ml Äther geschüttelt, bis eine homogene Lösung entstanden ist.

Behandlung: Platten mit I besprühen, bei Zimmertemperatur trocknen und mit II nachbesprühen.

NBD-Chlorid zum Nachweis der Nicotinsäure (62)

Lsg. a) 0.5 g NBD-Cl(7-Chlor-4-nitro-benzo-oxa-1,3-diazol) werden in 100 ml Acetonitril gelöst.

Lsg. b) 2% wässrige Na_2CO_3 -Lösung

Lsg. c) 2n HCl

Nicotinsäure ergibt beim Besprühen mit Lsg. a) + b) eine schwach lilagraue und beim Besprühen mit Lsg. a) + b) + c) eine rosa-braune Färbung. Der Nachweis ist nicht sehr empfindlich.

b) Terpene und Unverseifbarer Anteil

Vanillin-Schwefelsäure (modifiziert)

3 g Vanillin werden in 3 ml H_2SO_4 (conc.) gelöst und mit Äthanol auf 100 ml aufgefüllt.

Nachbehandlung: 10 Min. bei $110^{\circ}C$ erhitzen.

Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure (63)

(Liebermann Burchhards Reagens)

5 ml Essigsäureanhydrid und 5 ml conc. Schwefelsäure werden vorsichtig und unter Kühlung gemischt. Das Gemisch

wird unter Kühlung zu 50 ml Äthanol (abs.) zugefügt.

Das Reagens ist frisch zu bereiten !

Nachbehandlung: 10 Min. auf 110°C erhitzen.

Betrachten der Platten unter UV 360 nm

Antimon-III-chlorid (64)

(Carr-Price-Reagens)

25 g Sb-III-Cl werden bei Bedarf in 75 g Chloroform gelöst.

Nachbehandlung: 10 Min. auf 110°C erhitzen !

Betrachten der Platten unter UV 360 nm

Chlorsulfonsäure (65)

5 ml Chlorsulfonsäure werden in 10 ml Eisessig unter Kühlen gelöst.

Nachbehandlung: 5 - 10 Min. auf 130°C erhitzen.

Fluoreszenz im langwelligen UV

c) Benzoe- und Essigsäure

Bromkresolgrün Reagens Nr.31 nach STAHL (66)

5.4 Präparative Dünnschichtchromatographie

Die in Chloroform gelösten Substanzen (10 mg/ml) wurden strichförmig auf Kieselgelfertigplatten 60 GF₂₅₄ Fa.Merck aufgetragen (10 - 15 mg/Platte) und in den nachstehend aufgeführten Laufmittelsystemen bis zu einer Höhe von 15 cm entwickelt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels wurden die entsprechenden, durch UV-Minderung erkennbaren Zonen mit einer Präpariernadel markiert, ausgeschabt, in eine kleine Säule gefüllt und mit ca. 100 ml Chloroform eluiert. Darauf wurde das Chloroform unter Vakuum entfernt und im jeweiligen Lösungsmittel zum Kristallisieren aufgestellt.

5.5 Säulenchromatographie

5.51 Aluminiumoxydsäulen

Als Adsorbens wurde Al₂O₃ W 200 neutral der Fa.Woelm, Aktivitätsstufe II verwendet. Säulen von 3 - 6 cm Durchmesser

wurden mit Benzol gefüllt und das trockene Al_2O_3 portionsweise in das Benzol eingestreut. Durch langsames Absetzen des Adsorbens wurde eine gleichmäßige Säulenpackung erreicht.

5.52 Kieselgelsäulen

Verwendet wurde Kieselgel Merck 60 (0.05 - 0.2 mm), das mit dem jeweiligen Elutionsmittel in die Säule eingeschlämmt wurde.

5.6 Gaschromatographie

Die gaschromatographische Prüfung der Fettsäuremethylester wurde im Gaschromatographen Modell Packard durchgeführt.

Säulenlänge: 1.8 m x 4 mm
Trägermaterial: 15% EGSS-X (Polyäthylenglykolsuccinat + Silicon) auf Gaschrom P (100 - 120 mesh)
Temperatur: 185°C isotherm
Trägergas: Argon
Papiervorschub: 12"/h
Gasdurchfluß: 65 ml/min
Einspritzmenge: 0.1 mg Fettsäureester
Gesamtretentionszeit von Stearinsäuremethylester:
ca. 8 Min.

Die Identifizierung der Fettsäuremethylester erfolgte durch Überspritzen mit authentischen Testsubstanzen der Fa. Merck.

6.0 Physikalisch-chemische Untersuchungen

Schmelzpunkte

Die Substanzen wurden bei den Schmelzpunkten angepaßten Temperaturen in der Trockenpistole über Diphosphorpentoxid getrocknet und das Schmelzintervall auf der Koflerheizbank der Fa. Reichert, Wien, bestimmt. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

UV-Spektren

Die UV-Spektren wurden in einem Beckman DK-2a ratio recording Spektrophotometer am Institut für Pharmazeutische Arzneimittel-

lehre der Universität München bzw. mit einem Gilford UV 240 Spektralphotometer im Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried bei München, aufgenommen. Die Messung der UV-Remissionsspektren wurde auf einem Zeiss-Chromatogramm-Spektralphotometer im Institut für Pharmakognosie und Analytische Phytochemie der Universität des Saarlandes, Saarbrücken, durchgeführt.

IR-Spektren

Die Spektren wurden an unserem Institut mit einem Spektrophotometer der Fa. Beckman IR-8 bzw. am MPI für Biochemie, Martinsried, mit einem Perkin Elmer 225 IR Gitterspektrophotometer in KBr gemessen.

Massenspektren

Die Massenspektren und die hochauflösenden Massenspektren wurden am Institut für organische Chemie der Universität München mit einem AEI MS 902 Massenspektrometer aufgenommen.

^1H -NMR-Spektren

Die Aufnahme der Kernresonanzspektren erfolgte am Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, mit einem HA-100 Kernresonanzspektrophotometer.

^{13}C -NMR-Spektren

Die ^{13}C -NMR-Spektren wurden von der Fa. Varian AG., Zug/Schweiz, an einem XL-100 Kernresonanzspektrophotometer gemessen.

Optische Drehung

Die Drehungen wurden im lichtelektrischem Polarimeter der Fa. Zeiss (LEP A2) an unserem Institut durchgeführt.

7.0 Orientierende Voruntersuchungen

7.1 Screening auf Alkaloide

7.11 Nachweis von Alkaloiden in den Samen

500 g getrocknete, gemahlene Samen wurden am Soxhlet unter mehrmaligem Wechseln des Lösungsmittels 48 Stdn. mit 5 l Petroläther (= Petrolätherextrakt) extrahiert. Nach Trocknen der Droge an der Luft, wurde diese weitere 48 Stdn. mit 6 l Äther (= Ätherextrakt) und darauf mit Methanol (= Methanol-extrakt) ausgezogen.

Die eingeeengten Extrakte wurden dünnschicht- und papierchromatographisch nach 5.3 bzw. 5.2 untersucht. Zur Herstellung der salzsauren Auszüge wurden die auf 2/3 ihres Volumens eingeeengten Extrakte jeweils mit 3mal ca. 150 ml 1n HCl ausgeschüttelt. Beim Behandeln des Petrolätherextraktes zeigten sich stabile Emulsionen, die sich erst nach mehrtägigem Stehen zum Teil trennten. Eine Probe der salzsauren Auszüge wurde nach 5.1 a) bzw. 5.1 b) mit Valsers bzw. Mayers Reagens versetzt.

Da nur die salzsauren Lösungen des Petrolätherextraktes positive Reaktion zeigten, wurden diese 3mal mit CHCl_3 ausgeschüttelt (= saurer Chloroform-Extrakt). Die salzsaure Lösung wurde anschließend stufenweise mit Na_2CO_3 alkalisiert und jeweils bei pH 8, pH 9 und pH 14 3mal mit CHCl_3 ausgezogen (basische Chloroform-Extrakte). Um eventuell vorhandene quartäre N-haltige Basen zu erfassen, wurde die basische Lösung erneut mit HCl (10%) auf pH 2 gebracht und eine Probe davon mit Mayers Reagens getestet. Sämtliche Chloroformextrakte wurden papier- und dünnschichtchromatographisch nach 5.21 bzw. 5.3 untersucht.

7.12 Nachweis von Alkaloiden im Preßkuchen

500 g Samen wurden in einer Ölmühle gepreßt. Der Preßkuchen (ca. 250 g) wurde 40 Stdn. mit Methanol am Soxhlet extrahiert. Die weitere Behandlung des, am Rotationsverdampfer eingeeengten Extraktes, erfolgte wie unter 7.11.

7.13 Nachweis der Alkaloide im Öl

250 g des nach Pressen erhaltenen, dickflüssigen, dunkelbraunen Öles von charakteristischem Geruch und Geschmack wurde im Verhältnis 1:2 mit Petroläther verdünnt und wie unter 7.11 aufgearbeitet und untersucht.

7.2 Untersuchung des Öles

7.21 Alkalische Hydrolyse

150 g Celastrusöl wurden mit 600 ml 2n methanolischer KOH (27 g KOH in rotuli werden in 35 ml H_2O gelöst und mit MeOH p.a. auf 200 ml aufgefüllt) 3 Stdn. unter Rückfluß verseift. Nach Entfernung des Methanols unter Vakuum wurde der unverseifbare Anteil durch 10maliges Ausschütteln mit jeweils 50 ml Äther entfernt. Dabei entstanden Emulsionen, die durch Zugabe von festen NaCl zerstört werden konnten. Der alkalische Rückstand wurde mit HCl conc. auf pH 2 eingestellt und zur Isolierung der Fettsäuren 3mal mit ca. 100 ml Äther ausgeschüttelt.

7.22 Nachweis der Benzoe- und Essigsäure

a) durch direkte Dünnschichtchromatographie

Das nach 7.21 nach dem Entfernen des Äthers erhaltene, in der Kälte erstarrende Produkt, wurde zum Nachweis der Benzoessäure nach 5.32 d) ($R_f = 0.63$) und zum Nachweis der Essigsäure nach 5.32 e) ($R_f = 0.33$) dünn-schichtchromatographisch untersucht. Als Testsubstanzen dienten authentische Benzoe- und Essigsäure. Nach Trocknen der Platten bei $120^{\circ}C$ erfolgte die Detektion mit Bromkresolgrün (5.33 c)). Die Säuren erscheinen als gelbe Flecken auf blauem Grund.

b) nach Wasserdampfdestillation

Zur besseren Trennung wurde das Fettsäuregemisch einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Aus dem Wasserdampfdestillat konnte durch Umkristallisieren aus heißem H_2O Benzoessäure erhalten werden. Schmp. $122^{\circ}C$. (Der Mischungsmelzpunkt mit authentischer Benzoessäure zeigte keine Depression).

7.23 Untersuchung des unverseifbaren Anteils

Der nach 7.21 erhaltene unverseifbare Anteil (Ausbeute 1.0) wurde nach 5.32 f) dünn-schichtchromatographisch untersucht. Die Identifizierung erfolgte durch Vergleich mit authentischen Substanzen und der unterschiedlichen Färbung nach Besprühen mit Essigsäureanhydrid- H_2SO_4 , Sb-III-Cl und Chlorsulfonsäure Reagens (5.33 b)).

Farbreaktionen von α, β -Amyrin und Sitosterol mit verschiedenen Detektionsmitteln (LM: $CHCl_3$ -Äthylacetat 8:2):

Substanz	Detektion	Farbe	R_f
α, β -Amyrin	Chlorsulfonsäure	rosa	0.76
	Antimon-III-chlorid/ Essigsäureanhydrid/ H_2SO_4	orange	
β -Sitosterol	Chlorsulfonsäure	grau	0.62
	Antimon-III-chlorid/ Essigsäureanhydrid/ H_2SO_4	orange	

7.24 Darstellung der Fettsäuremethylester für die Gaschromatographie

Ein Teil der Ätherlösung, die nach 7.21 die Fettsäuren enthielt, wurde 3mal mit wenig Wasser gewaschen, zur Trockne eingengt und in 10 ml Äther aufgenommen. Die Methylierung erfolgte nach der Methode von POHL, GLASL und WAGNER (67), indem aus 1.5 g N-Methyl-N-nitroso-p-toluylsulfon-amid (MNSA) in 3.0 ml Äther, 3.0 ml 60% KOH und 5.0 ml Carbitol (Glykol-Monoäthyläther) Diazomethan hergestellt und dieses mit Hilfe von Stickstoff in die in Äther gelösten Fettsäuren, eingeleitet wurde. Nach Beendigung der Methylierung, sichtbar an der durch überschüssiges Diazomethan verursachten Gelbfärbung, wurde die Ätherlösung im Stickstoffstrom zur Trockne eingengt, der Rückstand in Chloroform gelöst und diese Lösung gaschromatographisch untersucht.

7.3 Untersuchungen zur Erstellung eines Isolierungsganges für Alkaloide und Terpene

7.31 Verteilung des in Petroläther gelösten Öles gegen Methanol-H₂O (4:1)

200.0 g des abgepressten Öles wurden in 600 ml Petroläther aufgenommen und nach Abnutschen des entstandenen Niederschlages im Scheidetrichter solange mit kleinen Anteilen (ca. 50 ml) eines MeOH-H₂O (4:1)-Gemisches geschüttelt, bis die methanolisch-wässrige Phase nahezu farblos war (ca. 25mal). Nach Abziehen des Alkoholgemisches am Rotationsverdampfer bei 40°C ergab sich ein hellgelbes, harziges Produkt, das nach Dünnschichtchromatographie (5.32 a), Laufmittel C) mit Dragendorff positiv reagierte.

Ausbeute: 45.0 g

Zur weiteren Reinigung wurde dieses in ca. 500 ml Äther gelöst und in ca. 200 ml 5% HCl gerührt. Nach Abdampfen des Äthers wurde die saure Lösung abfiltriert und mit ges. Na₂CO₃-Lösung auf pH 8 gebracht. Der entstandene Niederschlag wurde in Chloroform aufgenommen und in Laufmittel C chromatographiert.

7.32 Extraktion der Samen mit n-Hexan und Verteilung gegen n-Salzsäure

500.0 g gemahlene Samen wurden in einem Perkolator bei Zimmertemperatur mit 5 l n-Hexan (S.ber. 64 - 68°C) extrahiert. Der zu etwa der Hälfte eingeeengte Auszug wurde ca. 20mal gegen jeweils 50 ml 1 n HCl verteilt, solange bis eine Probe der salzsauren Lösung mit Valsers Reagens nur noch eine schwache Trübung zeigte. Die gesammelten HCl-Extrakte wurden mit ges. Na₂CO₃-Lösung auf pH 7 - 8 eingestellt und 3mal mit ca. 200 ml Äther ausgeschüttelt.

Die Chromatographie erfolgte im Laufmittel C auf Kieselgelplatten, die Detektion mit essigs. Dragendorff.

7.33 Verteilung des in n-Hexan gelösten Preßöles gegen 2n HCl

250.0 g des kalt abgepreßten Öles wurden im Verhältnis 1:3 mit n-Hexan verdünnt und 20mal gegen jeweils 50 ml 2n HCl geschüttelt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie unter 7.32.

8.0 Isolierungen

8.1 Isolierung des Rohalkaloidgemisches (= Fraktion A)

50 kg Droge wurden in einer Mühle kalt gepreßt und das Öl (ca. 25 l) in Anteilen mit n-Hexan im Verhältnis 1:3 versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abgenutscht. Jeweils 4 l des mit n-Hexan verdünnten Öles wurden in Scheidetrichtern mit je 200 ml 2n HCl geschüttelt. Dieser Vorgang wurde solange wiederholt, bis eine Probe der salzsauren Auszüge, mit Valsers Reagens versetzt, nur noch eine schwache Trübung bzw. Opaleszenz hervorrief. Dies war nach ca. 20maligem Behandeln mit 2n HCl der Fall. Jeweils 1 l der gesammelten HCl-Auszüge wurden mit ges. Na_2CO_3 -Lösung auf pH 7 - 8 eingestellt. Dabei entstand ein flockiger Niederschlag bzw. eine Trübung. Die ausgefallenen Basen wurden 3mal mit 300 ml Äther ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherauszüge mit H_2O gewaschen und mit MgSO_4 (sicc.) getrocknet. Aus den abfiltrierten, unter Vakuum zur Trockne eingeengten Ätherlösungen erhielten wir ca. 4.5 g eines grünlich gelben, klebrigen Pulvers, das durch Umfällen mit Äther/Petroläther in eine lockere, nicht klebrige Form gebracht werden konnte (Gesamtausbeute: 4.2 g).

8.2 Isolierung des Terpengemisches (= Fraktion B)

Die nach Ausschüttelung mit 2n HCl in n-Hexan gelöst gebliebenen Substanzen (siehe 8.1) wurden gegen ein $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ -Gemisch (4:1) so oft verteilt, bis die methanolisch-wässrige Phase nur noch eine schwach hellgelbe Färbung aufwies. Dazu wurden jeweils 4 l n-Hexan-Extrakt ca. 25mal gegen je 400 ml $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (4:1) geschüttelt. Nach Entfernen des Methanol-Wasser-Gemisches bei 40°C unter Vakuum, wurden 50.0 g des hellgelben, äußerst klebrigen Harzes in ca. 500 ml konz. HCl ge-

löst. Diese Lösung wurde, nach Filtration, solange mit H_2O versetzt, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Das gelblich-weiße Pulver wurde abgenutscht, mit H_2O gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Zur weiteren Reinigung wurde der Niederschlag in ca. 100 ml Cyclohexan gelöst und von den unlöslichen Anteilen abfiltriert. Das Filtrat wurde zur Trockne eingengt (Ausbeute ca. 32 g) und dünnschichtchromatographisch nach 5.33 b) untersucht (siehe Abb. 5, S.20).

8.3 Säulenchromatographie des Terpengemisches

Adsorbens: 100 g Al_2O_3 W 200 neutral, Fa. Woelm

Aktivitätsstufe: II

Säulenlänge: 25 cm

Säulendurchmesser: 3 cm

Tropfgeschwindigkeit: 20 Tr./Min.

Fraktionierung: 30 ml/Fraktion

Eluierung: Vorlauf: Benzol (500 ml)

Laufmittel I: Benzol-Chloroform (90:10)

Laufmittel II: Benzol-Chloroform (75:25)

Laufmittel III: Benzol-Chloroform (50:50)

Laufmittel IV: Chloroform

Laufmittel V: Chloroform-Methanol (99:1)

Laufmittel VI: Chloroform-Methanol (98:2)

Laufmittel VII: Chloroform-Methanol (96:4)

Laufmittel VIII: Chloroform-Methanol (90:10)

Laufmittelmengen: siehe Abb. 6, S.22

1.5 g der Fraktion B wurden in ca. 5 ml Chloroform gelöst und zu dieser Lösung ca. 3 g Al_2O_3 gegeben. Durch Abblasen unter Stickstoff wurde das Lösungsmittel entfernt und die an Aluminiumoxyd adsorbierte Substanz auf die Säule gebracht.

Die am automatischen Fraktionssammler aufgefangenen Fraktionen (siehe Abb. 6, S.22) wurden nach Entfernen des Lösungsmittels einzeln gewogen und im Laufmittel C (5.32 a)) (Detektion: Dragendorff) untersucht. Fraktionen mit gleichen Inhaltsstoffen wurden vereinigt und zum Kristallisieren aufgestellt. Der Wechsel der Laufmittel I - VII erfolgte dann, wenn pro Fraktion nur noch 1 - 2 mg Substanz aus der Säule eluiert wurden.

8.4 Säulenchromatographie des Rohalkaloidgemisches (= Fraktion A)

Adsorbens: 250 g Kieselgel 60 (0.05 - 0.2 mm)

Fa. Merck

Säulenlänge: 48 cm

Säulendurchmesser: 3.5 cm

Tropfgeschwindigkeit: 15 Tr./Min.

Fraktionierung: 20 ml/Fraktion

Eluierung: Laufmittel I: Chloroform

Laufmittel II: Chloroform-Methanol (90:10)

Laufmittelmenge: siehe Abb. 7, S.24

2.2 g der Fraktion A wurden in 10 ml Chloroform gelöst und vorsichtig auf die Säule aufgebracht. Die weitere Behandlung erfolgte wie unter 8.3 angegeben (siehe auch Abb. 7, S.24).

8.5 Präparative Dünnschichtchromatographie

Durchführung wie unter 5.4 angegeben.

8.51 Laufmittel zur Reinigung von B₁:

Benzol-Äthylacetat (1:1), 2mal entwickelt

8.52 Laufmittel zur Abtrennung der Begleitstoffe im Alkaloidgemisch A.g.m.O.:

Chloroform-MeOH (99:1), 2mal entwickelt

8.53 Laufmittel zur Trennung von A₁, A₂, A₃

Benzol-Äthylacetat (1:1), 2mal entwickelt

9.0 Strukturaufklärungen

9.1 Malkangunin (B₁)

Schmp.: 240 - 245°C (Äther/Petroläther)

DC: Kieselgel GF₂₅₄/ Laufmittel C R_f = 0.53

Laufmittel E R_f = 0.33

Laufmittel F R_f = 0.95

Detektion: siehe Abb. 5, S. 20

$[\alpha]_D^{27} = -58.8$ (c = 1.077 in CHCl₃)

C ₂₄ H ₃₂ O ₇ (Mol.Gew.):	gef.	C	66.6%	H	7.12%
	ber.	C	66.6%	H	7.40%

hochaufl.MS: Referenzverbindung: Heptacosafuortributylamin

Auflösung: 50 ppm, 42 eV

gef. 432.215

ber. 432.214

UV(EtOH)s.Abb.22,S.52 nm(ϵ): $\lambda_{\max}$ 229(320, 272(600) Sch.,
280(506) Sch.

IR (in KBr)s.Abb.8,S.25 cm^{-1} : 3460(OH mit H-Brücken);
2990-2920(CH-Val.); 1750(C=O ges.Ester); 1725(C=O
Arylester); 1600 u.1575(Aromat); 1370 u. 1380
(C(CH₃)₂); 1300-1030(C-O-Val.); 1185 u. 950(Aromat);
720 (monosubst.Benzolring)

MS s.Abb.9,S.26 m/e (peaks 20% der Rel.Int.): M⁺ 432(35),
311(14),181(45),137(26),124(12),105(100),77(16),43(28)

Hochauflösung: (Referenzverbindung: Heptacosafuortributyl-
amin, Auflösung: 50 ppm, 70 eV)

m/e 181 gef. 181.123 (C₁₁H₁₇O₂)
ber. 181.123

m/e 137 gef. 137.096 (C₉H₁₃O)
ber. 137.097

¹H-NMR(in CDCl₃, 100 MHz, TMS, int.) s.Abb.11,S.29
Spektraldaten s.Tab.3,S.38

¹³C-NMR(in CDCl₃,25.18 MHz, TMS, int.) s.Abb.12,S.30

¹³C-FT-Spektrum, ppm: 170.0; 167.0 (Carboxylgruppen);
132.8; 130.5; 129.9; 128.4 (aromatisch-olefinischer
Bereich); 86.8; 81.9; 72.1; 71.5; 68.0; 62.7; 53.2;
48.1; 39.8; 36.2; 31.2; 27.5; 26.3; 25.2; 20.9; 17.2
(aliphatisch bzw. cycloaliphatischer Bereich)

9.11 Methanolyse von Malkangunin (B_1)

20 mg Malkangunin wurden in 0.4 ml MeOH p.a. gelöst und mit 0.04 ml Natriummethylatlösung(2%) versetzt. Nach 6stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde 1 Tropfen Essigsäure zugegeben.

9.12 Isolierung von B_1 -Hy

Das Methanolyseprodukt wurde über eine Kieselgelsäule gereinigt. Zu der nach Methanolyse erhaltenen Lösung wurde ein 1 ml $CHCl_3$ gegeben und diese auf eine Kieselgelsäule gebracht(s.5.5).

Säulenlänge: 3 cm
Säulendurchmesser: 1 cm
Tropfgeschwindigkeit: 10 Tr./Min.
Fraktionierung: 2 ml/Fraktion
Elutionsmittel: $CHCl_3$ -MeOH (9:1)
Menge an Elutionsmittel: ca. 100 ml

Die Untersuchung der einzelnen Fraktionen erfolgte dünn-schichtchromatographisch in $CHCl_3$ -MeOH (9:1) und Besprühen mit Vanillin- H_2SO_4 (5.33 b)).

Im Vorlauf befand sich Benzoesäuremethylester ($K_p.199^{\circ}C$). Aus Fraktion 16 - 17 kristallisierte nach Umlösen in Äthylacetat B_1 -Hy.

B_1 -Hy

Schmp. $164 - 168^{\circ}C$ (Äthylacetat)

Mischschmelzpunkt mit authentischem Malkanguniol ohne Depression.

DC: Vergleich von Malkanguniol und B_1 -Hy

Laufmittel	R_f (Malkanguniol)	R_f (B_1 -Hy)
Benzol-Äthylacetat(1:10)	0.1	0.1
$CHCl_3$ -MeOH H_2O (30:50:24)	0.9	0.9
$CHCl_3$ -Aceton (4:1)	0.15	0.15
$CHCl_3$ -MeOH (9:1)	0.5	0.5
Sprühlösung: Vanillin- H_2SO_4 siehe 5.33 b)		

$C_{15}H_{26}O_5$ (Mol.Gew. 286)

hochaufl.MS (Referenzverbindg.: Perfluortributylamin, Auflösung:
40 ppm, 70 eV)

gef. 286.169

ber. 286.177

IR (in KBr): siehe Abb.13, S.31 cm^{-1} : 3450-3340 (OH-Val.);
2940-2900 (CH-Val.); 1470-1430 (CH-Def.); 1380
u. 1370 ($C(CH_3)_2$); 1210-1310 (-OH-Def.-Geschw.)

MS: m/e (% Rel.Int.)

M^+ 286(13), 269(16), 268(87), 250(34), 219(10), 199(10),
181(100), 179(18), 175(16), 161(18), 153(10), 151(29), 150(24),
149(18), 139(26), 138(24), 137(58), 136(13), 135(16), 126(24),
125(79), 124(26), 123(24), 122(10), 121(13), 120(18), 119(13),
112(16), 109(26), 107(26), 97(21), 96(24), 95(26), 91(18),
86(29), 85(34), 84(42), 83(18), 82(18), 81(16), 79(16), 77(13),
69(24)

NMR: (in $CDCl_3$, 100 MHz, TMS, int.) Spektraldaten s. Tab. 2,
S.33.

9.13 Dehydrierung von Malkangunin (B_1) (durchgeführt von Herrn Dipl.-Chem. Müller bei Prof. STAHL)

Die Versuche wurden mit Substanzeinsätzen von 100 und 200 μg
(TFG) Malkangunin mit Palladium auf Bariumsulfat (10%) nach
dem Prinzip des Reaktorrohres durchgeführt. Die optimalen
Reaktionstemperaturen konnten mittels der Reaktionsdurch-
führung im Temperaturgradient ermittelt werden. Das erhal-
tene TFG zeigte das erwartete Reaktionsprodukt in Form einer
spindelförmigen Zone ($T_A = 250^\circ$, $T_E = 450^\circ C$) mit einem deut-
lichen Maximum bei $400^\circ C$. Um möglichen Umlagerungsreaktionen
bei der hohen Temperatur zu begegnen, wurde der weitere De-
hydrierungsversuch bei $300^\circ C$ durchgeführt. Die Reaktionspro-
dukte wurden strichförmig aufgefangen. Die Auftrennung der
Reaktionsprodukte erfolgte durch Entwicklung mit Hexan auf
Kieselgel HF₂₅₄. An der Stelle maximaler Absorption ($\lambda =$
225 nm) wurde das Remissionsspektrum aufgenommen.

Identifizierung des Reaktionsproduktes erfolgte durch Vergleich des Remissionsspektrums mit einer authentischen Eudalinprobe (s. Abb. 14, S. 35).

9.2 Celapanin (A_2)

Schmp. 245 - 249°C (Methanol)

DC: Kieselgel GF₂₅₄/Benzol-Äthylacetat (1:1) $R_f = 0.56$

Detektion: essigs. Dragendorff (5.33 a))

NBD-Chlorid (5.33 a))

Vanillin- H_2SO_4 (5.33 b))

$$[\alpha]_D^{26} = -64.7 \quad (c = 0.460 \text{ in } CHCl_3)$$

$C_{30}H_{35}O_{10}N$ (Mol. Gew.):

gef. C	63.1%	H	5.92%	N	2.41%
ber. C	63.2%	H	6.15%	N	2.46%

hochaufl. MS: Referenzverbindung: Perfluortributylamin

Auflösung: 40 ppm, 70 eV

gef. 569.226

ber. 569.226

UV (EtOH) s. Abb. 22, S. 52 nm (ϵ): $\lambda_{\max}$ 218(14328), 249(5006), 257(4936), 263(4264), 271(3072)

IR (in KBr) s. Abb. 17, S. 41 cm^{-1} : 3120(CH-Val.), 2980-2940(CH_2 , CH_3 -Val.), 1740(C=O ges. Ester), 1730(C=O Arylester), 1590, 1560, 1500(Aromat), 1470-1420(CH_2 , CH_3 Def.), 1360 u. 1385($C(CH_3)_2$), 1310-1020(C-O-Val.), 870 isoliertes od. zwei benachbarte arom.H), 755 u. 735 (vier od. drei benachb. arom.H)

MS s. Abb. 18, S. 42 m/e (peaks > 10% der Rel. Int.): M^+ 569(38), 555(15), 554(38), 528(31), 527(85), 467(11), 453(12), 452(42), 447(14), 389(13), 388(13), 250(14), 232(11), 218(19), 182(16), 175(11), 157(17), 124(26), 106(51), 95(100), 83(19), 78(17), 43(39), 32(31)

NMR (in CDCl_3 , 100 MHz, TMS, int.) s. Abb. 19, S. 43

Spektraldaten s. Tab. 6, S. 51

(in Benzol, 100 MHz, TMS, int.) δ in ppm: Methyl: 0.69(d, $J = 8$ Hz, 3 Prot.); 1.02(s, 3 Prot.); 1.33(s, 3 Prot.); 1.47(s, 3 Prot.) Acetyl: 1.66(s, 6 Prot.) Grundalkohol: H-7: 2.44(d, $J = 3$ Hz, 1 Prot.); H-6: 5.42(s, 1 Prot.); H-9: 5.69(d, $J = 6$ Hz, 1 Prot.); H-1: 5.81(m, 1 Prot.); H-8: 5.94(m, 1 Prot.); H-2, H-3, H-4: im Bereich 1.02-2.44 (m, 5 Prot.); Furanoyl u. Nicotinoyl: 6.40(1 Prot.); 6.66 (m, 2 Prot.); 7.58(m, 1 Prot.); 8.35(m, 2 Prot.); 9.61(1 Prot.)

9.21 Dehydrierung von Celapanin (ausgeführt von Dipl.-Chem. Müller bei Prof. STAHL)

Die Umsetzung erfolgte wie bei Malkangunin mit 50 mg Pd/BaSO_4 (10%) bei Substanzeinwaagen von 100 μg . Die Reaktionstemperaturen betrugen 350°C und 400°C . Die Reaktionsprodukte wurden strichförmig aufgefangen (Strichlänge 1 cm) und auf Kieselgel HF_{254} mit Hexan als Fließmittel aufgetrennt. Zur Identifizierung der Reaktionsprodukte anhand der charakteristischen Remissionsspektren wurden die Spektren jedoch nicht aus dem ursprünglichen Chromatogramm heraus vermessen, sondern zur Vermeidung von Untergrundstörungen erst nach Transfer und erneuter Chromatographie auf einer anderen DC-Platte.

9.3 Celapanigin (A_1)

Schmp.: $184 - 185^\circ\text{C}$ (Äthanol)

DC: Kieselgel GF_{254} /Benzol-Äthylacetat (1:1) $R_f = 0.65$

Detektion: essigs. Dragendorff (5.33 a))

$\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_9\text{N}$ (Mol. Gew. 579)

hochaufl. MS: Referenzverbindung: Perfluortributylamin

Auflösung: 50 ppm, 70 eV

gef. 579.246

ber. 579.246

UV (EtOH) s. Abb. 22, S. 52 $\text{nm}(\epsilon): \lambda_{\text{max}} 227(19734), 258(3625), 264(3851), 270(3215), 281(1233)$

IR (in KBr) s. Abb. 23, S. 53 cm^{-1} : 2960-2930 (CH-Val.), 1750 (C=O ges. Ester), 1725 (C=O Arylester), 1590 (Aromat), 1470-1420 (CH-Def.), 1390 u. 1370 (C(CH₃)₂), 1280-1225 (C-O-Val.), 1095-1110 (C-O-Val. u. Aromaten), 1025, 970, 950 (Aromat), 895 (isoliertes arom. H), 745, 790 (vier od. drei benachb. arom. H), 715 (mono-subst. Benzolring)

MS s. Abb. 18, S. 42 m/e (peaks > 10% der Rel. Int.): M⁺ 579 (68), 565 (12), 564 (45), 458 (29), 245 (25), 124 (23), 106 (43), 105 (100), 77 (14), 49 (14), 43 (30)

NMR (in CDCl₃, 100 MHz, TMS, int.) s. Abb. 24, S. 55
Spektraldaten s. Tab. 7, S. 57.

9.4 Celapagin (A₃)

Schmp.: 275 - 283°C (Methanol)

DC: Kieselgel GF₂₅₄/Benzol-Äthylacetat (1:1) R_F = 0.48

Detektion: essigs. Dragendorff (5.33 a))

C₃₀H₃₅O₈N (Mol. Gew. 537)

hochaufl. MS: Referenzverbindung: Perfluortributylamin

Auflösung: 45 ppm, 70 eV

gef. 537.231

ber. 537.237

MS s. Abb. 18, S. 42 m/e (peaks > 10% der Rel. Int.): M⁺ 537 (43), 523 (24), 522 (75), 462 (13), 416 (10), 415 (42), 258 (13), 175 (12), 157 (15), 134 (10), 124 (25), 107 (12), 106 (63), 105 (100), 83 (16), 80 (13), 79 (10), 78 (17), 77 (16), 51 (28), 49 (72), 47 (10), 43 (19), 32 (22)

NMR s. Abb. 27, S. 62 (in CDCl₃, D₂O-Austausch, 100 TMS, int.)
Spektraldaten s. Tab. 8, S. 64

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) CHOPRA R.N., Gloss.Ind.med.Plants,Concil of Scientific and Industrial Research, New Delhi, 1956, p.56
- 2) HAKIM A.E., Brit.med.J. 4735, 852, 1951
- 3) Hagers Handb.d.pharm.Praxis, 4.Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1972, p.782
- 4) The Wealth of India, Vol.2, Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi, 1950, p. 122-13
- 5) CHOPRA R.N., Indigeous Drugs of India, Art Press, Calcutta, India, 1939, p.473
- 6) DESAI V.G., The Materia Medica and Therapeutics of Indian Medicinal Plants, Bombay, 1927, p.212-13
- 7) Aryabishak, 9th Edition, Sastu Sahitya Publication, Ahmedabad, India, 1939, p.334-35
- 8) SHETH U.K., VAZ A. und DELIWALA C.V., BELLARE R.A., Arch.int. Pharmacodyn. 144, (1-2), 34-50, 1963; ref.C.A. 59, 15812, 1963
- 9) NEOGI N.C. und BALIGA A.K., J.Sci.Res.Banaras Hindu Univ. 15, (1), 135-41, 1964-65 (Eng.); ref.C.A. 64, 5649, 1966
- 10) BHAKUNI D.S., DHAR M.L., DHAR M.M., DHAWAN B.N. und MEHROTRA B.N., Ind.J.Exper.Biol. 7, 250-62, 1969
- 11) WEHMER K., Die Pflanzenstoffe, G.Fischer, Jena, 1913, p.717
- 12) BASU N.K. und PABRAI P.R., J.Am.pharm.Ass. 35, 272-73, 1946
- 13) KUMARASWAMY O.N. und MANJUNATH B.L., J.Ind.chem.Soc. 13, 353-57, 1936
- 14) WARSI S.A., Curr.Sci. 2, (3), 134-35, 1940
- 15) SHAH M.M. et al., Curr.Sci. 16, (2), 57-58, 1947
- 16) BHARGAVA P.N., Proc.Ind.Acad.Sci. 24 A, 507, 1946
- 17) GUNDE B.G. und HILDITCH T.P., J.chem.Soc., 1980-85, 1938
- 18) DEN HERTOOG Jr. H.J. und HACKMANN J.TH. und NANAVATI D.D. und SUKH DEV, Tetrahedron Letters 11, 845-48, 1973
- 19) HEGNAUER R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhäuser-Verlag, Basel u.Stuttgart, Bd. 3, 1964, p.395-407
- 20) SANTAVY F. und REICHSTEIN T., Helv.chim.Acta 31, 1655, 1948
- 21) DOEBEL K. und REICHSTEIN T., Helv.chim.Acta 32, 592, 1949
- 22) PAILER M. und LIBISELLER R., Monatsh.f.Chemie 93, 403, 1962
- 23) PAILER M. und LIBISELLER R., Monatsh.f.Chemie 93, 511 ff, 1962
- 24) WADA H., SHIZURI Y., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters 28, 2655-58, 1971

- 25) SHIZURI Y., WADA H., SUGIURA K., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters 28, 2659-62, 1971
- 26) WADA H., SHIZURI Y., SUGIURA K., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters, 33, 3131-32, 1971
- 27) SUGIURA K., SHIZURI Y., WADA H., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters 29, 2733, 1971
- 28) PAILER M., STREICHER W. und LEITICH J., Monatsh.f.Chemie, 102 1873-97, 1971
- 29) KLASEK A., SANTAVY F., DUFFIELD M.A. und REICHSTEIN T., Helv.chim.Acta 54, 2144, 1971
- 30) BUDZIKIEWICZ H., RÖMER A. und TARAZ K., Z.Naturforsch. 27b, 800-805, 1972
- 31) CROMBIE L., HAM P.J. und WHITING D.A., Phytochemistry 12, 703, 1973
- 32) DUBRAVKOVA L., TOMKO J. und DOLEJS L., Phytochemistry 12, 944, 1973
- 33) ACREE F. und HALLER H.L., J.Am.Chem.Soc. 72, 1608, 1950
- 34) BEROZA M., J.Am.Chem.Soc. 73, 3656 ff, 1951
- 35) BEROZA M., J.Am.Chem.Soc. 74, 1585 ff, 1952
- 36) BEROZA M., J.Am.Chem.Soc. 75, 2136, 1953
- 37) BEROZA M., J.Am.Chem.Soc. 75, 44, 1953
- 38) BEROZA M., J.Org.Chem. 28, 3562, 1963
- 39) SHIZURI Y., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters, 10, 741-44, 1973
- 40) SUGIURA K., YAMADA K. und HIRATA Y., Tetrahedron Letters 2, 113-116, 1973
- 41) KUPCHAN S.M., SMITH R.M. und BRYAN R.F., J.Am.Chem.Soc. 92, 6667, 1970
- 42) CAIS M., GUISBURG D. und MANDELBAUM, Abstr.IUPAC Symposium, Kyoto(Japan), April 1964 p. 95
MANDELBAUM A., D.Sc.Thesis, Israel, Inst.f.Technology, Haifa, 1963
- 43) BISHAY D.W. und KOWALEWSKI Z. und PHILLIPSON J.D., Phytochemistry 12, 693-98, 1973
- 44) KUPCHAN S.M. et al., J.Am.Chem.Soc. 94, (4), 1354, 1972
- 45) FARNSWORTH N.R., J.Pharm.Sci. 55, (3), 225-276, 1966
- 46) GILDEMEISTER E. und HOFFMANN F., Die Ätherischen Öle, Bd.IIIa, Akademie-Verlag, Berlin, 1960, p.221 ff
- 47) RUZICKA L. und MEYER J., Helv.chim.Acta 4, 505, 1921
- 48) RUZICKA L., MEYER J. und MINGAZZINI M., Helv.chim.Acta 5, 345, 1922
- 49) STAHL E., Analyst 94, 723, 1963
- 50) LEMIEUX R.U., KULLNIG R.K. und MOIR R.Y., J.Am.chem.Soc. 80, 2237, 1958

- 51) LEMIEUX R.U., KULLNIG R.K., BERNSTEIN H.J. und SCHNEIDER W.G., J.Am.chem.Soc. 80, 6098, 1958
- 52) ACHESON R.M. und TAYLOR G.A., J.Chem.Soc. 4140, 1959
- 53) ROGERSON H., J.Chem.Soc. 101, 1040, 1912
- 54) OTTING W., Spektrale Zuordnungstafel der Infrarotabsorptionsschwingungsbanden, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
- 55) SASAKI K. und HIRATA Y., J.chem.Soc.Perkin II, 1268, 1972
- 56) HEGNAUER R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. III, Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart, 1964, p. 18
- 57) TRAVELL J., J.Pharm.Sci. 33, 689, 1934
- 58) CROMWELL B.T. in PEACH K. und TRACY M.V., Modern Methods of Plant Analysis, Bd.IV, Springer-Verlag, Berlin, 1955, p.373
- 59) MUNIER R. und MACHEBOEUFF M., Bull.Soc.chim.biol. 33, 846, 1951
- 60) MUNIER R., Bull.Soc.chim.France 19, 852, 1952
- 61) WHITTAKER V.P. und WIJESUNDERA S., Biochem.J. 51, 348, 1952
- 62) REISCH J., Pharmaz.Ztg. 115, 752, 1970
- 63) TSCHESCHE R., J.Chromatogr. 5, 217, 1961
- 64) STAHL E., Chemiker-Ztg. 82, 323, 1958
- 65) TSCHESCHE R. und WULF G., Chem.Ber. 94, 2019, 1961
- 66) STAHL E., Dünnschicht-Chromatographie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1967, p.819
- 67) POHL P., GLASL H. und WAGNER H., J.Chromatogr. 42, 75-82, 1969

L e b e n s l a u f

Am 22. November 1943 wurde ich, Elfriede H e c k e l , als zweites Kind des Meisters der Schutzpolizei Franz X. Heckel und seiner Ehefrau Maria geb. Berghammer, in Velden/Vils Ndbay., geboren. Mein Vater wurde ein Jahr nach meiner Geburt durch einen Berufsunfall getötet, meine Mutter verstarb im September 1948. Ich wuchs bei meiner Großmutter Anna Stammler und meinem Onkel und Vormund Hans Stammler, Brauereibesitzer, in Velden auf.

Nach fünf Jahren Volksschule in Velden besuchte ich von 1954 bis 1960 die Oberrealschule in Landshut/Seligenthal, wo ich in dem dort angeschlossenen Internat erzogen wurde. 1960 wechselte ich in das Adolf-Weber-Wirtschafts-Gymnasium München über, das ich 1963 mit der Reifeprüfung abschloß.

Nach halbjähriger Praktikantenzeit in der Goetheplatz-Apotheke in München studierte ich an der Universität München drei Semester Tiermedizin und legte im Sommer-Semester 1965 die tierärztliche Vorprüfung ab. Die restliche Praktikantenzeit leistete ich in der Adelgunden-Apotheke, München, ab.

Ab Winter-Semester 1967/68 studierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Fach Pharmazie, das ich im Oktober 1970 mit dem Staatsexamen beendete.

Im November 1970 begann ich am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. Wagner mit vorliegender Arbeit. Zu Studienzwecken und Erlernung von Labortechniken hielt ich mich von September 1971 bis April 1972 in der School of Pharmacy der Ohio State University, Columbus/Ohio, USA, auf.

Von Beginn der vorliegenden Arbeit bis April 1972 erhielt ich ein Promotionsstipendium des bayer. Staates. Seit April 1972 bin ich Verwalterin der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich mit Wirkung vom 24. April 1972.

